Robert K.
MURRAY

David A.
BENDER

Kathleen M.
BOTHAM

Peter J.
KENNELLY

Victor W.
RODWELL

P. Anthony
WEIL

28ª edición

HARPER
Bioquímica ilustrada



Director editorial: Javier de León Fraga
Editor Sponsor: Gabriel Romero Hernández
Supervisor de edición: Manuel Bernal Pérez
Corrección de estilo: Luis A. Leñero Leal
Supervisor de producción: José Luis González Huerta

NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El (los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

HARPER. BIOQUÍMICA ILUSTRADA



Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C.P. 01376, México, D.F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. Núm. 736

ISBN: 978-607-15-0304-6

Translated from the twenty-eight English edition of: *Harper's Illustrated Biochemistry*

ISBN: 978-0-07-162591-3

1234567890
Impreso en China

109876543210
Printed in China

Contenido

SECCIÓN VI
TEMAS ESPECIALES 459

C A P Í T U L O

1

Bioquímica y medicina

Robert K. Murray, MD, PhD

INTRODUCCIÓN

La bioquímica puede de nirse como *la ciencia de la base química de la vida* (del griego *bios*, "vida"). La **célula** es la unidad estructural de los sistemas vivos. De este modo, también es factible describir a la bioquímica como *la ciencia de los constituyentes químicos de las células vivas, y de las reacciones y los procesos que experimentan*. Mediante esta de nición, la bioquímica abarca grandes áreas de la **biología celular**, la **biología molecular** y la **genética molecular**.

El objetivo de la bioquímica es describir y explicar, en términos moleculares, todos los procesos químicos de las células vivas

El principal objetivo de la bioquímica es el entendimiento completo, en el nivel molecular, de todos los procesos químicos relacionados con las células vivas. Para lograr este objetivo, los bioquímicos han buscado aislar las numerosas moléculas que se encuentran en las células, determinar su estructura y analizar cómo funcionan. Se han usado muchas técnicas para estos propósitos; algunas de ellas se resumen en el cuadro 1-1.

El conocimiento de la bioquímica es esencial para todas las ciencias de la vida

La bioquímica de los ácidos nucleicos ocupa un lugar fundamental justo en el corazón de la **genética**; a su vez, el uso de métodos genéticos ha sido crucial para dilucidar muchas áreas de la bioquímica. La **siología**, el estudio de la función del cuerpo, se superpone con la bioquímica casi por completo. En la **inmunología** se emplean muchas técnicas bioquímicas y numerosos métodos inmunológicos han encontrado amplio uso por bioquímicos. La **farmacología** y la **farmacia** se fundamentan en un sólido conocimiento de la bioquímica y la siología, en particular, casi todos los fármacos son metabolizados mediante reacciones catalizadas por enzimas. Los venenos actúan sobre reacciones o procesos bioquímicos; éste es el tema de estudio de la **toxicología**. Los métodos bioquímicos cada vez reciben un uso más amplio en la investigación relacionada con los aspectos básicos de la **patología** (el estudio de la enfermedad), como la in amación, la lesión celular y el cáncer. Muchos investigadores en **microbiología**, **zoología** y **botánica** emplean métodos bioquímicos de manera casi exclusiva. Estas relaciones no sorprenden, porque la vida, como se le conoce, depende de reacciones y procesos bioquímicos. De hecho, las antiguas barreras entre las ciencias de la vida están derrumbándose y la bioquímica está llegando a ser, cada vez de manera más frecuente, su lenguaje común.

Una relación recíproca entre la bioquímica y la medicina ha estimulado avances mutuos

Las dos preocupaciones más importantes para los investigadores en las ciencias de la salud —y en particular para los médicos— son tanto el entendimiento y el mantenimiento de la **salud**, como la comprensión y el tratamiento efectivo de las **enfermedades**. La bioquímica tiene enormes repercusiones sobre estas dos preocupaciones fundamentales de la medicina. De hecho, la interrelación de la bioquímica y la medicina es una amplia avenida que circula en dos sentidos. Los estudios bioquímicos han esclarecido muchos aspectos de la salud y la enfermedad, a la inversa, el estudio de diversos aspectos de la salud y la enfermedad ha abierto nuevas áreas en la bioquímica. En la gura 1-1 se muestran algunos ejemplos de esta avenida de dos direcciones. Por ejemplo, el conocimiento de la estructura y la función de las proteínas fue necesario para dilucidar la diferencia bioquímica única entre la hemoglobina normal y la de células falciformes. Por otra parte, el análisis de la hemoglobina de células falciformes ha contribuido de manera signi cativa al entendimiento de la estructura y la función tanto de la hemoglobina como de otras proteínas normales. Cabría citar ejemplos análogos de bene cio recíproco entre la bioquímica y la medicina para los otros incisos pareados que muestra la gura 1-1. Otro ejemplo es la investigación pionera de Archibald Garrod, médico que ejerció en Inglaterra a principios del siglo XX, quien estudió a pacientes con diversos trastornos hasta cierto punto raros (alcaptonuria, albinismo, cistinuria y pentosuria; los cuales se describen en capítulos posteriores), y estableció que estas enfermedades estaban determinadas por mecanismos genéticos. Garrod designó a estas enfermedades como **errores innatos del metabolismo (metabolopatías)**; sus ideas proporcionaron un importante fundamento para el desarrollo de la genética bioquímica humana. Los esfuerzos más recientes por entender la base de la enfermedad genética conocida como **hipercolesterolemia familiar**, que origina aterosclerosis grave a una edad temprana, han llevado a alcanzar un progreso notorio del entendimiento de los receptores celulares y de los mecanismos de captación del colesterol por las células. Los estudios de **oncogenes** en células cancerosas han dirigido la atención hacia los mecanismos moleculares involucrados en el control del crecimiento celular normal. Tales ejemplos y muchos otros recalcan la manera en que el estudio de

la enfermedad llega a abrir áreas de la función celular para investigación bioquímica básica.

La relación entre medicina y bioquímica tiene inferencias importantes para la primera. Mientras el tratamiento médico esté fundamentado con firmeza en el conocimiento de la bioquímica y otras ciencias básicas, la práctica de la medicina tendrá una base racional capaz de adaptarse para dar cabida al nuevo conocimiento. Esto contrasta con prácticas de salud no ortodoxas y con al menos algunas opciones de "medicina alternativa" que a menudo están fundamentadas en poco más que mitos e ilusiones y, por lo general, carecen de base intelectual alguna.

CUADRO 1-1 Principales métodos y preparaciones usados en laboratorios de bioquímica

Métodos para separar biomoléculas y purificarlas[1]
Fraccionamiento de sal (p. ej., precipitación de proteínas con sulfato de amonio)
Cromatografía: en papel, de intercambio iónico, de afinidad, de capa delgada, de gas-líquido, de líquido a alta presión, de filtración en gel
Electroforesis: en papel, de alto voltaje, en agarosa, en acetato de celulosa, en gel de almidón, en gel de poliacrilamida, en gel de dodecil sulfato de sodio (SDS)-poliacrilamida
Ultracentrifugación
Métodos para determinar estructuras de las biomoléculas
Análisis elemental
Espectroscopia con luz ultravioleta (UV), visible, infrarroja y con resonancia magnética nuclear (NMR)
Uso de hidrólisis en ácido o alcalí para degradar la biomolécula en estudio hacia sus constituyentes básicos
Uso de un conjunto de enzimas de especificidad conocida para degradar la biomolécula en estudio (p. ej., proteasas, nucleasas, glucosidasas)
Espectrometría de masa
Métodos de secuenciación específicos (p. ej., para proteínas y ácidos nucleicos)
Cristalografía con rayos X
Preparaciones para estudiar procesos bioquímicos
Animal entero (incluye animales transgénicos y animales con genes noqueados)
Órgano aislado perfundido
Corte de tejido
Células enteras
Homogeneizado
Organelos celulares aislados
Subfraccionamiento de organelos
Metabolitos y enzimas purificados
Genes aislados (incluso reacción en cadena de polimerasa y mutagénesis dirigida hacia sitio)

[1]Casi todos estos métodos son idóneos para analizar los componentes presentes en homogeneizados de células y en otras preparaciones bioquímicas. El uso secuencial de varias técnicas por lo general permitirá la purificación de casi todas las biomoléculas. El lector encontrará detalles en libros sobre métodos de investigación bioquímica.

LOS PROCESOS BIOQUÍMICOS NORMALES SON LA BASE DE LA SALUD

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la **salud** como el estado de "bienestar físico, mental y social completo, y no tan sólo la ausencia de enfermedad". Desde un punto de vista estrictamente bioquímico, cabe considerar a la salud como aquella situación en la cual las muchas miles de reacciones intracelulares y extracelulares que ocurren en el cuerpo están procediendo a índices acordes con la supervivencia máxima del organismo en el estado fisiológico. Sin embargo, se trata de un punto de vista en extremo reduccionista, debe quedar de manifiesto que el cuidado de la salud de los pacientes no sólo requiere un amplio conocimiento de los principios biológicos, sino también de principios psicológicos y sociales.

La investigación bioquímica tiene repercusiones sobre la nutrición y la medicina preventiva

Un prerrequisito importante para el mantenimiento de la salud es la ingestión óptima de diversas sustancias químicas en la dieta, entre las cuales destacan **vitaminas**, algunos **aminoácidos**, ciertos **ácidos grasos**, diversos **minerales** y **agua**. Dado que gran parte del tema de estudio tanto de la bioquímica como de la nutrición comprende diversos aspectos de estas sustancias químicas, hay una estrecha relación entre ambas ciencias. Más aún, se está haciendo hincapié en los intentos sistemáticos por mantener la salud y prevenir la enfermedad, esto es, en **medicina preventiva**, así que se observa un énfasis en los métodos nutricionales para —por ejemplo— tratar la prevención de aterosclerosis y cáncer. El entendimiento de la nutrición depende en gran medida del conocimiento sobre bioquímica.

Casi todas las enfermedades (quizá todas) tienen una base bioquímica

Los autores creen que casi todas las enfermedades, si no es que todas, son manifestaciones de anormalidades de moléculas, reacciones químicas o procesos bioquímicos. En el cuadro 1-2 se listan los **principales factores que generan enfermedades** en animales y seres humanos; todos afectan una o más reacciones químicas o moléculas cruciales en el cuerpo. Este libro presenta muchos ejemplos de las bases bioquímicas de las enfermedades; en casi todas ellas los estudios bioquímicos contribuyen tanto al diagnóstico como al tratamiento. El cuadro 1-3 resume algunos **usos importantes de investigaciones bioquímicas y pruebas de laboratorio en relación con enfermedades**. El capítulo 54 de este libro provee aún más ayuda para ilustrar la relación entre bioquímica y enfermedad al comentar con cierto detalle los aspectos bioquímicos de 16 casos médicos diferentes.

Al final del capítulo 54 se esbozan de manera muy sucinta algunos de los **principales desafíos que la medicina y las ciencias de la salud relacionadas** encaran. Al abordar estos desafíos, los estudios bioquímicos ya están entrelazados, y seguirán estándolo, con estudios en varias otras disciplinas, como genética, inmunología, nutrición, patología y farmacología.

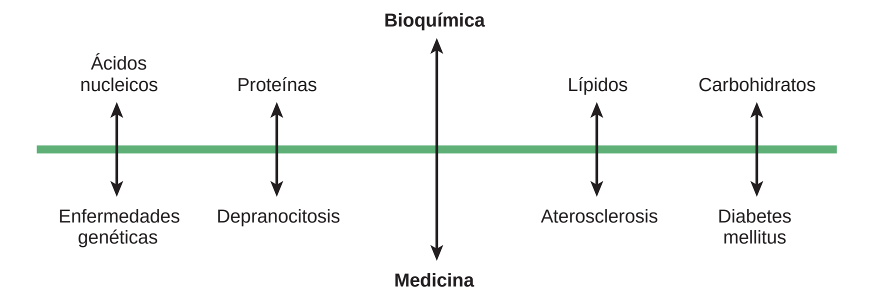


FIGURA 1-1 Ejemplos de la avenida en dos direcciones que conecta la bioquímica y la medicina. El conocimiento de las moléculas bioquímicas mostradas en la parte superior del diagrama ha esclarecido el entendimiento de las enfermedades mostradas en la mitad inferior y, a la inversa, los análisis de las enfermedades que se muestran abajo han aclarado muchas áreas de la bioquímica. Note que la drepanocitosis es una enfermedad genética, y que tanto la aterosclerosis como la diabetes mellitus tienen componentes genéticos.

Repercusiones del *Human Genome Project* (HGP, Proyecto del Genoma Humano) sobre la bioquímica, biología y medicina

A finales del decenio de 1990, el HGP logró notorios progresos en la secuenciación del genoma humano. Esto culminó en julio de 2000, cuando líderes de los dos grupos comprendidos en este esfuerzo (el *International Human Genome Sequencing Consortium* y *Celera Genomics*, compañía privada) anunciaron que se había secuenciado más de 90% del genoma. A principios de 2001 se publicaron versiones borrador de la secuencia. Salvo algunos vacíos, la secuencia de todo el genoma humano se completó en 2003, 50 años después de la descripción de la naturaleza de doble hélice del ácido desoxirribonucleico (DNA) por Watson y Crick.

Son enormes las **inferencias** del HGP para la **bioquímica**, toda la **biología**, así como para la **medicina** y las **ciencias de la salud relacionadas**, y aquí sólo se mencionan algunos puntos. **Ahora es posible aislar cualquier gen y, por lo general, determinar su estructura y función** (p. ej., mediante experimentos de secuenciación y de gen noqueado). Muchos **genes antes desconocidos** han sido revelados; sus productos ya se han establecido o están bajo estudio. Se han aclarado nuevos aspectos de la **evolución del ser humano** y se han refinado los procedimientos para **rastrear genes vinculados con enfermedad**. En diversas secciones de este libro hay referencias al genoma humano.

En la figura 1-2 se muestran **áreas de gran interés actual** que se han desarrollado de manera directa como resultado del progreso logrado en el HGP o cuyo avance se ha visto estimulado por el mismo. Como resultado del HGP, han surgido muchos de los llamados

CUADRO 1-2 **Las principales causas de enfermedades**[1]

1. *Agentes físicos:* traumatismo mecánico, temperatura extrema, cambios repentinos de la presión atmosférica, radiación, descarga eléctrica.
2. *Agentes químicos, incluso fármacos:* ciertos compuestos tóxicos, fármacos terapéuticos, etcétera.
3. *Agentes biológicos:* virus, bacterias, hongos, formas superiores de parásitos.
4. *Falta de oxígeno:* pérdida del aporte sanguíneo, disminución de la capacidad transportadora de oxígeno de la sangre, envenenamiento de las enzimas oxidativas.
5. *Trastornos genéticos:* congénitos, moleculares.
6. *Reacciones inmunitarias:* anafilaxia, enfermedad autoinmunitaria.
7. *Desequilibrios nutricionales:* deficiencias, excesos.
8. *Desequilibrios endocrinos:* deficiencias o excesos hormonales.

[1]**Nota:** todas las causas listadas actúan al influir sobre los diversos mecanismos bioquímicos en la célula o en el cuerpo.

(Adaptado, con autorización, de Robbins SL, Cotram RS, Kumar V: *The Pathologic Basis of Disease,* 3a. ed. Saunders, 1984. Copyright © 1984 Elsevier Inc. con autorización de Elsevier.)

CUADRO 1-3 **Algunos usos de investigaciones bioquímicas y pruebas de laboratorio en relación con enfermedades**

Uso	Ejemplo
1. Revelar las causas y los mecanismos fundamentales de enfermedades	Demostración de la naturaleza de los defectos genéticos en la fibrosis quística.
2. Sugerir tratamientos racionales de enfermedades con base en el inciso 1	Una dieta con bajo contenido de fenilalanina para el tratamiento de fenilcetonuria.
3. Ayudar en el diagnóstico de enfermedades específicas	Uso de las concentraciones plasmáticas de troponina I o T en el diagnóstico de infarto de miocardio.
4. Actuar como pruebas de detección para el diagnóstico temprano de ciertas enfermedades	Uso de medición de la tiroxina o de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) en la sangre en el diagnóstico neonatal de hipotiroidismo congénito.
5. Ayudar a vigilar el progreso (esto es, recuperación, empeoramiento, remisión o recaída) de ciertas enfermedades	Uso de la enzima plasmática alanina aminotransferasa (ALT) en la vigilancia del progreso de hepatitis infecciosa.
6. Ayudar en la evaluación de la respuesta de enfermedades a la terapia	Uso de la medición del antígeno carcinoembrionario (CEA) en la sangre en ciertos pacientes que han recibido tratamiento para cáncer de colon.

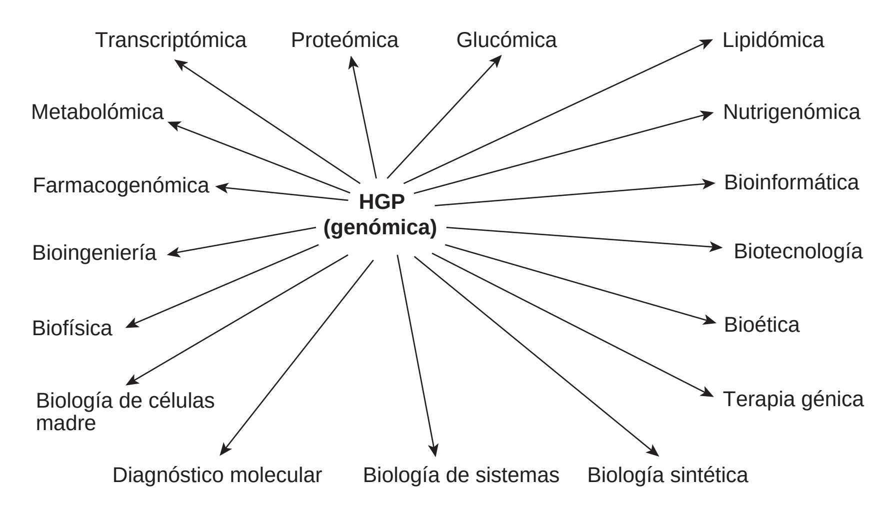


FIGURA 1-2 El *Human Genome Project* (HGP) ha in□uido sobre muchas disciplinas y áreas de investigación.

campos de **-ómica**, que comprenden estudios integrales de las estructuras y funciones de las moléculas que cada uno estudia. El glosario de este capítulo proporciona las de niciones de los campos listados a continuación. Los productos de genes (moléculas de ácido ribonucleico [RNA] y proteínas) están bajo estudio con el uso de las técnicas de **transcriptómica** y **proteómica**. Un notorio ejemplo de la rapidez del progreso en transcriptómica es la explosión de conocimiento relacionado con moléculas de RNA pequeñas como reguladoras de la actividad de genes. Otros campos de -ómica comprenden **glucómica**, **lipidómica**, **metabolómica**, **nutrigenómica** y **farmacogenómica**. Para mantenerse al día con la cantidad de información que se está generando, la **bioinformática** ha recibido mucha atención. Otros campos relacionados a los cuales se ha transmitido el ímpetu del HGP son **biotecnología**, **bioingeniería**, **biofísica** y **bioética**. La **biología de células madre** ocupa un lugar preponderante en gran parte de la investigación actual. La promesa que la **terapia génica** lleva implícita aún no se cumple, pero parece probable que eso ocurrirá tarde o temprano. Se han creado muchas **pruebas diagnósticas moleculares** nuevas en áreas como pruebas y diagnóstico genéticos, microbiológicos e inmunológicos. La **biología de sistemas** también está en ciernes. La **biología sintética** quizá es la más interesante de todas, cuenta con el potencial de crear organismos vivos (p. ej., en un inicio bacterias pequeñas) a partir de material genético *in vitro*, el cual quizá podría ser diseñado para llevar a cabo tareas especí cas (p. ej., limpiar derrames de petróleo). Como en el caso de las células madre, esta área atraerá mucha atención por parte de expertos en bioética y otros. Más adelante en este libro se hace referencia a muchos de los temas anteriores.

Todo lo anterior ha hecho que la época actual sea muy interesante para estudiar o participar de manera directa en biología y medicina. Los resultados de la investigación en las diversas áreas antes mencionadas tendrán grandes repercusiones en el futuro de la biología, la medicina y las ciencias de la salud.

RESUMEN

- La bioquímica es la ciencia que se encarga del estudio de las diversas moléculas que se encuentran en células y organismos vivos, así como sus reacciones químicas. Dado que la vida depende de reacciones bioquímicas, la bioquímica se ha convertido en el lenguaje básico de todas las ciencias biológicas.
- La bioquímica se encarga del estudio de toda la gama de formas de vida, desde virus y bacterias que pudieran considerarse simples hasta seres humanos complejos.
- La bioquímica y la medicina están íntimamente relacionadas. La salud depende de un equilibrio armonioso de reacciones bioquímicas que están ocurriendo en el cuerpo, en tanto que la enfermedad re eja anormalidades en biomoléculas, reacciones bioquímicas o procesos bioquímicos.
- Los avances en el conocimiento de la bioquímica han esclarecido muchas áreas de la medicina. A la inversa, el estudio de las enfermedades a menudo ha revelado aspectos previamente no sospechados de la bioquímica. Los métodos bioquímicos suelen ser fundamentales para esclarecer las causas de enfermedades y diseñar terapias apropiadas.
- El uso juicioso de diversas pruebas bioquímicas de laboratorio es un componente integral del diagnóstico y de la vigilancia del tratamiento.
- Un conocimiento sólido de la bioquímica y de otras disciplinas básicas conexas es esencial para la práctica racional de la medicina y de ciencias de la salud relacionadas.
- Los resultados del HGP y de investigación en áreas a nes tendrán una profunda in uencia sobre el futuro de la biología, la medicina y otras ciencias de la salud.

REFERENCIAS

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. Elsevier Inc, 2006.

Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley, 2001. (Contiene unos 3 000 artículos sobre diversos aspectos de las ciencias de la vida. Está disponible en línea en www.els.net mediante una suscripción en bibliotecas.)

Fruton JS: *Proteins, Enzymes, Genes: e Interplay of Chemistry and Biology*. Yale University Press, 1999. (Provee el contexto histórico de gran parte de la investigación actual sobre bioquímica.)

Garrod AE: Inborn errors of metabolism. (Croonian Lectures.) Lancet 1908;2:1, 73, 142, 214.

Guttmacher AE, Collins FS: Genomic medicine—A primer. N Engl J Med 2002;347:1512. (Fue el primero de una serie de 11 artículos publicados

mensualmente en el *New England Journal of Medicine*, describiendo diversos aspectos de la medicina genómica.)

Guttmacher AE, Collins FS: Realizing the promise of genomics in biomedical research. JAMA 2005;294(11):1399.

Kornberg A: Basic research: e lifeline of medicine. FASEB J 1992;6:3143.

Kornberg A: Centenary of the birth of modern biochemistry. FASEB J 1997;11:1209.

Manolio TA, Collins FS: Genes, environment, health, and disease: Facing up to complexity. Hum Hered 2007;63:63.

McKusick VA: *Mendelian Inheritance in Man. Catalogs of Human Genes and Genetic Disorders*, 12th ed. Johns Hopkins University Press, 1998. [Abreviado como MIM]

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, 1997. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/ (Los números asignados a las entradas en el OMIM serán citados en algunos capítulos de este libro. Mediante consultar esta amplia presentación de enfermedades y otras entradas relacionadas sobre proteínas especí cas, enzimas y demás, el lector incrementará en gran medida su conocimiento y comprensión de varios temas vinculados con este texto y que son considerados aquí. La versión en línea es actualizada casi a diario.)

Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, rev. ed. Oxford University Press, 2000.

Scriver CR et al (editors): *e Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Este texto está ahora disponible en línea y actualizado como *e Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* en www.ommbid.com. Se requiere una suscripción, pero el acceso está disponible en bibliotecas de universidades y hospitales, entre otras opciones.)

Scherer S: *A Short Guide to the Human Genome*. CSHL Press, 2008.

GLOSARIO

Bioética: área de la ética que se encarga de la aplicación de principios morales y éticos a la biología y medicina.

Biofísica: aplicación de física y sus técnicas a la biología y medicina.

Bioinformática: disciplina que se encarga de reunir, almacenar y analizar datos biológicos, en especial secuencias de DNA y proteína (véase capítulo 10).

Bioingeniería: aplicación de ingeniería a biología y medicina.

Biología de células madre: una célula madre es una célula indiferenciada que tiene el potencial de renovarse por sí misma y de diferenciarse hacia cualquiera de las células adultas que se encuentran en el organismo. La biología de células madre se encarga del estudio de las propiedades biológicas de las células madre y sus usos en diversas enfermedades.

Biología de sistemas: campo de la ciencia en el cual se estudian sistemas biológicos completos como enteros integrados (en contraposición con el método reduccionista de, por ejemplo, la bioquímica clásica).

Biología sintética: campo que combina técnicas biomoleculares con métodos de ingeniería para construir nuevas funciones y sistemas biológicos.

Biotecnología: campo en el cual se combinan métodos bioquímicos, de ingeniería y otros, para crear productos biológicos para uso en medicina y en la industria.

Diagnóstico molecular: uso de métodos moleculares (p. ej., sondas de DNA) para ayudar en el diagnóstico de diversas enfermedades bioquímicas, genéticas, inmunitarias, microbianas y otros padecimientos médicos.

Farmacogenómica: uso de información y tecnologías genómicas para optimizar el descubrimiento y desarrollo de blancos terapéuticos y de fármacos (véase capítulo 54).

Genómica: el genoma es el grupo completo de genes de un organismo (p. ej., el genoma humano), y genómica es el estudio a fondo de las estructuras y funciones de genomas (véase capítulo 10 y otros).

Glucómica: el glucoma es la totalidad de carbohidratos simples y complejos en un organismo. La glucómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de glucomas (p. ej., el glucoma humano; véase capítulo 47).

Lipidómica: el lipidoma es la totalidad de lípidos que se encuentran en un organismo. La lipidómica es el estudio a fondo de las estructuras y funciones de todos los miembros del lipidoma, así como de sus interacciones, tanto en salud como en enfermedad.

Metabolómica: el metaboloma es la totalidad de metabolitos (moléculas pequeñas comprendidas en el metabolismo) que se encuentran en un organismo. La metabolómica es el estudio a fondo de sus estructuras, funciones y cambios en diversos estados metabólicos.

Nutrigenómica: estudio sistemático de los efectos de los nutrientes sobre la expresión genética y de los efectos de variaciones genéticas sobre el manejo de nutrientes.

Proteómica: el proteoma es la totalidad de proteínas de un organismo. La proteómica es el estudio sistemático de las estructuras y funciones de proteomas, incluso variaciones en la salud y la enfermedad (véase capítulo 4).

Terapia génica: se aplica al uso de genes sometidos a procesos de ingeniería genética para tratar diversas enfermedades (véase capítulo 39).

Transcriptómica: el transcriptoma es el grupo completo de transcriptos de RNA producidos por el genoma a un periodo jo en el tiempo. La transcriptómica es el estudio integral de la expresión génica a nivel del RNA (véase capítulo 36 y otros).

C A P Í T U L O

2

Agua y pH

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El agua es el componente químico predominante de los organismos vivos. Sus singulares propiedades físicas, que incluyen la capacidad para disolver una amplia gama de moléculas orgánicas e inorgánicas, se derivan de su estructura bipolar y de su excepcional capacidad para formar enlaces de hidrógeno. La manera en que el agua interactúa con una biomolécula disuelta in uye sobre la estructura de cada una. El agua, un excelente nucleó lo, es un reactivo o un producto en muchas reacciones metabólicas. El agua tiene una propensión leve a disociarse hacia iones hidroxilo y protones. La acidez de soluciones acuosas por lo general se reporta usando la escala de pH logarítmica. El bicarbonato y otros amortiguadores en circunstancias normales mantienen el pH del líquido extracelular entre 7.35 y 7.45. Las alteraciones sospechadas del equilibrio acidobásico se veri can al medir el pH de la sangre arterial y el contenido de CO_2 de la sangre venosa. Algunas causas de acidosis (pH sanguíneo < 7.35) son cetosis diabética y acidosis láctica. La alcalosis (pH > 7.45) puede presentarse después de vómitos de contenido gástrico ácido. La regulación del equilibrio del agua depende de mecanismos hipotalámicos que controlan la sed, de la hormona antidiurética (ADH), de la retención o excreción de agua por los riñones, y de la pérdida por evaporación. La diabetes insípida nefrogénica, que comprende la incapacidad para concentrar orina o para hacer ajustes a cambios sutiles de la osmolaridad del líquido extracelular, se produce por falta de capacidad de respuesta de los osmorreceptores de los túbulos renales a la ADH.

EL AGUA ES UN SOLVENTE BIOLÓGICO IDEAL

Las moléculas de agua forman dipolos

Una molécula de agua es un tetraedro irregular, un tanto asimétrico, con oxígeno en su centro (g. 2-1). Los dos hidrógenos y los electrones no compartidos de los dos orbitales sp^3-hibridados restantes ocupan los ángulos del tetraedro. El ángulo de 105 grados entre los hidrógenos di ere un poco del ángulo tetraédrico ideal, de 109.5 grados. El amoniaco también es tetraédrico, con un ángulo de 107 grados entre sus hidrógenos. El agua es un **dipolo**, una molécula con carga eléctrica distribuida de manera asimétrica en toda su estructura. El átomo de oxígeno fuertemente electronegativo empuja los electrones en dirección contraria a los núcleos de hidrógeno, lo que los deja con una carga positiva parcial, mientras que sus dos pares de electrones no compartidos constituyen una región de carga negativa local.

El agua, un fuerte dipolo, tiene una **constante dieléctrica** alta. Como se describe de manera cuantitativa mediante la ley de Coulomb, la fuerza de la interacción F entre partículas que tienen carga opuesta es inversamente proporcional a la constante dieléctrica ε del medio circundante. La constante dieléctrica para un vacío es la unidad; para el hexano es 1.9; para el etanol, 24.3, y para el agua, 78.5. Por ende, el agua disminuye mucho la fuerza de atracción entre especies cargadas y polares en comparación con ambientes libres de agua que tienen constantes dieléctricas más bajas. Su fuerte dipolo y constante dieléctrica alta permiten al agua disolver grandes cantidades de compuestos cargados, como las sales.

Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno

Un núcleo de hidrógeno parcialmente desprotegido, unido de manera covalente a un átomo de oxígeno o de nitrógeno que extrae electrones, puede interactuar con un par de electrones no compartidos sobre otro átomo de oxígeno o nitrógeno para formar un **enlace de hidrógeno**. Dado que las moléculas de agua tienen estas dos características, la formación de enlaces de hidrógeno favorece la autoasociación de moléculas de agua hacia disposiciones ordenadas (g. 2-2). La formación de enlaces de hidrógeno ejerce una profunda in uencia sobre las propiedades físicas del agua, lo que explica su viscosidad, tensión super cial y punto de ebullición excepcionalmente altos. En promedio, cada molécula en agua líquida se asocia por medio de enlaces de hidrógeno con otras 3.5. Estos enlaces son hasta cierto punto débiles y transitorios, con una vida media de un microsegundo o menos. La ruptura de un enlace de hidrógeno en agua líquida sólo requiere alrededor de 4.5 kcal/mol, menos de 5% de la energía necesaria para romper un enlace O—H covalente.

La formación de enlaces de hidrógeno permite al agua disolver muchas biomoléculas orgánicas que contienen grupos funcionales que pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno. Los átomos de oxígeno de aldehídos, cetonas y amidas, por ejemplo, proporcionan pares de electrones solitarios que tienen la capacidad de servir como aceptores de hidrógeno. Los alcoholes y las aminas pueden servir como aceptores de hidrógeno y como donadores de átomos de hidrógeno desprotegidos para formación de enlaces de hidrógeno (g. 2-3).

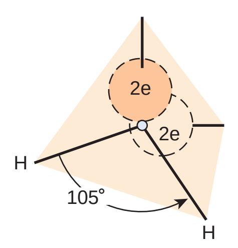


FIGURA 2-1 La molécula de agua tiene geometría tetraédrica.

FIGURA 2-2 **Izquierda:** asociación de dos moléculas de agua dipolares mediante un enlace de hidrógeno (línea punteada). **Derecha:** agrupación de cuatro moléculas de agua con enlaces de hidrógeno. Note que el agua puede servir de manera simultánea como donador y como aceptor de hidrógeno.

FIGURA 2-3 Los grupos polares adicionales participan en la formación de enlaces de hidrógeno. Se muestran los enlaces de hidrógeno formados entre alcohol y agua, entre dos moléculas de etanol, y entre el oxígeno del carbonilo peptídico y el hidrógeno del nitrógeno peptídico de un aminoácido adyacente.

LA INTERACCIÓN CON AGUA INFLUYE SOBRE LA ESTRUCTURA DE LAS BIOMOLÉCULAS

Los enlaces covalentes y no covalentes estabilizan moléculas biológicas

El enlace covalente es la mayor fuerza que mantiene juntas a las moléculas (cuadro 2-1). Las fuerzas no covalentes, aunque son de menor magnitud, hacen contribuciones importantes a la estructura, estabilidad y competencia funcional de macromoléculas en las células vivas. Estas fuerzas, que pueden ser de atracción o de repulsión, comprenden interacciones tanto dentro de la biomolécula como entre la misma y el agua, que es el principal componente del ambiente circundante.

CUADRO 2-1 Energías de enlace para átomos de importancia biológica

Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)	Tipo de enlace	Energía (kcal/mol)
O—O	34	O=O	96
S—S	51	C—H	99
C—N	70	C=S	108
S—H	81	O—H	110
C—C	82	C=C	147
C—O	84	C=N	147
N—H	94	C=O	164

Las biomoléculas se pliegan para colocar a grupos polares y cargados sobre sus superficies

Casi todas las biomoléculas son **an páticas**; esto es, poseen regiones con alto contenido de grupos funcionales cargados o polares, así como regiones con carácter hidrofóbico. Las proteínas tienden a plegarse con los grupos R de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas en el interior. Los aminoácidos con cadenas laterales de aminoácidos cargadas o polares (p. ej., arginina, glutamato, serina) por lo general están presentes sobre la super cie en contacto con agua. Un modelo similar prevalece en una bicapa de fosfolípidos, donde los grupos con cabeza cargada de fosfatidil serina o fosfatidil etanolamina tienen contacto con agua, mientras que sus cadenas laterales de ácido graso (acilo) hidrofóbicas se agrupan juntas y excluyen el agua. Este modelo maximiza las oportunidades para la formación de interacciones de carga-dipolo, dipolo-dipolo, y formación de enlaces de hidrógeno, favorables desde el punto de vista energético entre grupos polares sobre la biomolécula y el agua. También minimiza contactos desfavorables desde el punto de vista energético entre el agua y grupos hidrofóbicos.

Interacciones hidrofóbicas

El término "interacción hidrofóbica" (o hidrófoba) alude a la tendencia de compuestos no polares a autoasociarse en un ambiente acuoso. Tal autoasociación no está impulsada por atracción mutua ni por lo que a veces es denominado de manera incorrecta como "enlaces hidrofóbicos". La autoasociación minimiza interacciones desfavorables desde el punto de vista energético entre grupos no polares y agua.

Dado que los hidrógenos de grupos no polares —como los grupos metileno de hidrocarburos— no forman enlaces de hidrógeno, afectan la estructura del agua que los rodea. Las moléculas de agua adyacentes a un grupo hidrofóbico tienen restricción en cuanto al número de orientaciones (grados de libertad) que les permiten participar en el número máximo de enlaces de hidrógeno favorables desde el punto de vista energético. La formación máxima de múltiples enlaces de hidrógeno sólo puede mantenerse al aumentar el orden de las moléculas de agua adyacentes, con una disminución agregada de la entropía.

La segunda ley de la termodinámica establece que la energía libre óptima de una mezcla de hidrocarburo-agua está en función tanto de la entalpía máxima (por formación de enlaces de hidrógeno) como de la entropía mínima (grados máximos de libertad). De este modo, las moléculas no polares tienden a formar gotitas a n de minimizar el área de super cie expuesta y reducir el número de moléculas de agua afectadas. De modo similar, en el ambiente acuoso de la célula viva las porciones hidrofóbicas de biopolímeros tienden a estar recluidas dentro de la estructura de la molécula o dentro de una bicapa lípida, lo que minimiza el contacto con agua.

Interacciones electrostáticas

Las interacciones entre grupos cargados ayudan a dar forma a la estructura biomolecular. Las interacciones electrostáticas entre grupos que tienen carga opuesta dentro de biomoléculas o entre las mismas se denominan **puentes de sal**, los cuales tienen fuerza comparable a la de los enlaces de hidrógeno, pero actúan en distancias mayores; por ende, a menudo facilitan el enlace de moléculas y iones cargados a proteínas y ácidos nucleicos.

Fuerzas de van der Waals

Surgen por atracciones entre dipolos transitorios generados por el movimiento rápido de electrones de todos los átomos neutros. Las fuerzas de van der Waals —mucho más débiles que los enlaces de hidrógeno, pero potencialmente abundantes— disminuyen en términos de la sexta potencia de la distancia que separa a los átomos. De este modo, actúan en distancias muy cortas, por lo general de 2 a 4 Å.

Fuerzas múltiples estabilizan biomoléculas

La doble hélice de DNA ilustra la contribución de múltiples fuerzas a la estructura de biomoléculas. Si bien cada cadena de DNA individual se mantiene junta por medio de enlaces covalentes, las dos hebras de la hélice se mantienen unidas de manera exclusiva mediante interacciones no covalentes. Estas últimas comprenden enlaces de hidrógeno entre bases de nucleótido (apareamiento de bases de Watson-Crick) e interacciones de van der Waals entre las bases de purina y pirimidina apiladas. La hélice presenta los grupos fosfato cargados y azúcares ribosa polares del esqueleto a agua mientras que resguarda dentro las bases nucleótido relativamente hidrofóbicas. El esqueleto extendido maximiza la distancia entre fosfatos que tienen carga negativa, lo que minimiza interacciones electrostáticas desfavorables.

EL AGUA ES UN EXCELENTE NUCLEÓFILO

Las reacciones metabólicas a menudo comprenden el ataque por pares solitarios de electrones que residen sobre moléculas ricas en electrones llamadas **nucleó los** sobre átomos con pocos electrones llamados **electró los**. Los nucleó los y electró los no necesariamente poseen una carga negativa o positiva formal. El agua, cuyos dos pares solitarios de electrones sp^3 tienen una carga negativa parcial, es un excelente nucleó lo. Otros nucleó los de importancia biológica son los átomos de oxígeno de fosfatos, alcoholes y ácidos carboxílicos; el azufre de tioles; el nitrógeno de aminas y el anillo imidazol de la histidina. Los electró los comunes son los carbonos carbonilo en amidas, ésteres, aldehídos y cetonas, y los átomos de fósforo de fosfoésteres.

El ataque nucleofílico por agua a menudo origina la ruptura de los enlaces amida, glucósido o éster que mantienen juntos a los biopolímeros. Este proceso recibe el nombre de **hidrólisis**. A la inversa, cuando unidades de monómeros se unen para formar biopolímeros como proteínas o glucógeno, el agua es un producto, por ejemplo, durante la formación de un enlace peptídico entre dos aminoácidos:

Si bien la hidrólisis es una reacción favorecida desde el punto de vista termodinámico, los enlaces amida y fosfoéster de polipéptidos y oligonucleótidos son estables en el ambiente acuoso de la célula. Esta conducta al parecer paradójica re eja el hecho de que la termodinámica que rige el equilibrio de una reacción no determina la velocidad a la cual procederá. En las células, catalíticos proteína llamadas **enzimas** aceleran el índice de reacciones hidrolíticas cuando es necesario. Las **proteasas** catalizan la hidrólisis de proteínas hacia los aminoácidos que las componen, mientras que las **nucleasas** catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en el DNA y el RNA. Se requiere control cuidadoso de las actividades de estas enzimas para asegurar que sólo actúen sobre moléculas blanco apropiadas en momentos apropiados.

Muchas reacciones metabólicas comprenden transferencia de grupo

Muchas de las reacciones enzimáticas de las cuales depende la síntesis y desintegración de biomoléculas comprenden la transferencia de un grupo químico G desde un donador D hacia un aceptor A para formar un complejo de aceptor-grupo, A-G:

$$D{-}G + A \qquad A{-}G + D$$

La hidrólisis y fosforólisis de glucógeno, por ejemplo, comprenden la transferencia de grupos glucosilo hacia agua o hacia ortofosfato. La constante de equilibrio para la hidrólisis de enlaces covalentes favorece de manera signi cativa la formación de productos de división. A la inversa, en muchos casos las reacciones de transferencia de grupo de las cuales depende la biosíntesis de macromoléculas comprenden la formación de enlaces covalentes no favorecida desde el punto de vista termodinámico. Las enzimas superan dicha barrera al acoplar estas reacciones de transferencia de grupo a otras reacciones favorecidas, de modo que el cambio general de energía libre favorece la síntesis de biopolímero. Dado el carácter

nucleofílico del agua y su alta concentración en las células, ¿por qué los biopolímeros como las proteínas y el DNA son relativamente estables?, además, ¿de qué modo la síntesis de biopolímeros puede ocurrir en un ambiente acuoso? Las propiedades de las enzimas son fundamentales para ambas preguntas. En ausencia de catálisis enzimática, incluso las reacciones muy favorecidas desde el punto de vista termodinámico no necesariamente tienen lugar con rapidez. El control preciso y diferencial de la actividad enzimática, así como el secuestro de enzimas en organelos especí cos, determinan en qué condiciones siológicas un biopolímero dado se sintetizará o degradará. Los biopolímeros recién sintetizados no se hidrolizan de inmediato, lo cual en parte se debe a que los sitios activos de enzimas biosintéticas secuestran sustratos en un ambiente del cual es factible excluir al agua.

Las moléculas de agua muestran una tendencia leve pero importante a disociarse

La capacidad del agua para ionizarse, si bien es leve, tiene importancia fundamental para la vida. Dado que el agua tiene la capacidad de actuar como un ácido y como una base, su ionización puede representarse como una transferencia de protón intermolecular que forma un ion hidronio (H_3O^+) y un ion hidroxilo (OH^-):

$$H_2O + H_2O \quad H_3O^+ + OH^-$$

El protón transferido en realidad se relaciona con una agrupación de moléculas de agua. Los protones existen en solución no sólo como H_3O^+, sino también como multímeros tipo $H_5O_2{}^+$ y $H_7O_3{}^+$. Sin embargo, el protón se representa de manera sistemática como H^+, aun cuando de hecho está muy hidratado.

Dado que los iones hidronio e hidroxilo se recombinan de manera continua para formar moléculas de agua, es imposible declarar que un hidrógeno u oxígeno *individual* está presente como un ion o formando parte de una molécula de agua. En un instante es un ion, pero al siguiente forma parte de una molécula de agua; de modo que no se consideran iones o moléculas individuales. En lugar de eso, se hace referencia a la *probabilidad* de que en cualquier instante en el tiempo un hidrógeno estará presente como ion o como parte de una molécula de agua. Dado que 1 g de agua contiene 3.46×10^{22} moléculas, la ionización del agua puede describirse de manera estadística. Declarar que la probabilidad de que un hidrógeno exista como un ion es de 0.01 signi ca que, en cualquier momento dado en el tiempo, un átomo de hidrógeno tiene una probabilidad en 100 de ser un ion pero 99 probabilidades en 100 de formar parte de una molécula de agua. La probabilidad real de que un átomo de hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de alrededor de 1.8×10^{-9}. De este modo, la probabilidad de que forme parte de una molécula de agua es de casi la unidad. Dicho de otra manera, por cada ion hidrógeno y cada ion hidroxilo en agua pura, hay 1.8 mil millones o 1.8×10^9 moléculas de agua. Sin embargo, los iones hidrógeno y los iones hidroxilo contribuyen de manera importante a las propiedades del agua.

Para la disociación del agua,

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

donde los corchetes representan concentraciones molares (estrictamente hablando, actividades molares) y K es la **constante de disociación**. Puesto que un mol de agua pesa 18 g, 1 litro (L) (1 000 g) de agua contiene 1 000 ÷ 18 = 55.56 mol. Así, el agua pura es 55.56 molar. Dado que la probabilidad de que un hidrógeno en agua pura exista como un ion hidrógeno es de 1.8×10^{-9}, la concentración molar de iones H^+ (o de iones OH^-) en agua pura es el producto de la probabilidad, 1.8×10^{-9}, veces la concentración molar de agua, 55.56 mol/L. El resultado es 1.0×10^{-7} mol/L.

Ahora es posible calcular el valor de K para el agua pura:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = \frac{[10^{-7}][10^{-7}]}{[55.56]}$$
$$= 0.018 \times 10^{-14} = 1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L}$$

La concentración molar del agua, 55.56 mol/L, es demasiado grande como para que la disociación la afecte de manera signi cativa, de modo que se considera que, en esencia, es constante. Así, esta constante puede incorporarse en la constante de disociación K para proporcionar una nueva y útil constante K_w (W, de *water*, "agua") llamada el **producto iónico** del agua. La relación entre K_w y K se muestra a continuación:

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L}$$
$$K_w = (K)[H_2O] = [H^+][OH^-]$$
$$= (1.8 \times 10^{-16} \text{mol/L})(55.56 \text{ mol/L})$$
$$= 1.00 \times 10^{-14} (\text{mol/L})^2$$

Note que las dimensiones de K son mol por litro y las de K_w son mol^2 por L^2. Como su nombre lo sugiere, el producto iónico K_w es igual desde el punto de vista numérico al producto de las concentraciones molares de H^+ y OH^-:

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

A 25°C, $K_w = (10^{-7})^2$, o 10^{-14} (mol/L)^2; a temperaturas por debajo de 25°C, K_w es un poco menor de 10^{-14}, en tanto que a temperaturas superiores a 25°C es un poco mayor de 10^{-14}. Dentro de las limitaciones declaradas del efecto de la temperatura, K_w es igual a 10^{-14} (mol/L)^2 para todas las soluciones acuosas, incluso soluciones de ácidos o bases. Se usa K_w para calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

EL pH ES EL LOGARITMO NEGATIVO DE LA CONCENTRACIÓN DE ION HIDRÓGENO

El término **pH** fue introducido en 1909 por Sörensen, quien lo de nió como el logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno:

$$\text{pH} = -\log[H^+]$$

Esta de nición, si bien no es rigurosa, es su ciente para muchos propósitos bioquímicos; a n de calcular el pH de una solución:

1. Se calcula la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$.
2. Se calcula el logaritmo base 10 de $[H^+]$.
3. El pH es el negativo del valor que se encuentra en el paso 2.

Por ejemplo, para agua pura a 25°C,

$$pH = -\log\left[H^+\right] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7.0$$

Este valor también se conoce como la *potencia* (*power* [inglés], *puissant* [francés], o *potennz* [alemán]) del exponente, de ahí el uso de "p".

Los valores de pH bajos corresponden a concentraciones altas de H^+, y los valores de pH altos corresponden a concentraciones bajas de H^+.

Los ácidos son **donadores de protones** y las bases son **aceptores de protones**. Los **ácidos fuertes** (p. ej., HCl, H_2SO_4) se disocian por completo hacia aniones y cationes, incluso en soluciones fuertemente acídicas (pH bajo). Por su parte, los **ácidos débiles** se disocian sólo en parte en soluciones acídicas. De modo similar, las **bases fuertes** (p. ej., KOH, NaOH) —no así las **bases débiles** (p. ej., $Ca[OH]_2$)— están por completo disociadas a pH alto. Muchas sustancias bioquímicas son ácidos débiles. Las excepciones son los intermediarios fosforilados, cuyo grupo fosforilo contiene dos protones disociables, el primero de los cuales es fuertemente acídico.

Los ejemplos que siguen ilustran cómo calcular el pH de soluciones ácidas y básicas.

Ejemplo 1: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidrógeno es de 3.2×10^{-4} mol/L?

$$\begin{aligned} pH &= -\log\left[H^+\right] \\ &= -\log\left(3.2 \times 10^{-4}\right) \\ &= -\log(3.2) - \log\left(10^{-4}\right) \\ &= -0.5 + 4.0 \\ &= 3.5 \end{aligned}$$

Ejemplo 2: ¿Cuál es el pH de una solución cuya concentración de ion hidroxilo es de 4.0×10^{-4} mol/L? Primero se de ne una cantidad **pOH** que es igual a –log $[OH^-]$ y que puede derivarse a partir de la de nición de K_w:

$$K_w = \left[H^+\right]\left[OH^-\right] = 10^{-14}$$

Por ende

$$\log\left[H^+\right] + \log\left[OH^-\right] = \log 10^{-14}$$

o

$$pH + pOH = 14$$

Para resolver el problema mediante este método:

$$\begin{aligned} \left[OH^-\right] &= 4.0 \times 10^{-4} \\ pOH &= -\log\left[OH^-\right] \\ &= -\log\left(4.0 \times 10^{-4}\right) \\ &= -\log(4.0) - \log\left(10^{-4}\right) \\ &= -0.60 + 4.0 \\ &= 3.4 \end{aligned}$$

Ahora:

$$\begin{aligned} pH &= 14 - pOH = 14 - 3.4 \\ &= 10.6 \end{aligned}$$

Los ejemplos anteriores ilustran de qué modo la escala de pH logarítmica facilita la emisión de reporte y la comparación de concentraciones de ion hidrógeno que di eren por órdenes de magnitud de otra, esto es, 0.00032 M (pH 3.5) y 0.000000000025 M (pH 10.6).

Ejemplo 3: ¿Cuáles son los valores de pH para KOH de *a*) 2.0×10^{-2} mol/L y de *b*) 2.0×10^{-6} mol/L? El OH^- surge a partir de dos fuentes: KOH y agua. Dado que el pH está determinado por el $[H^+]$ total (y el pOH por el $[OH^-]$ total), ambas fuentes deben considerarse. En el primer caso, *a*), la contribución del agua al $[OH^-]$ total es insigni cante; es imposible decir lo mismo para el segundo caso, *b*):

	Concentración (mol/L)	
	(a)	(b)
Molaridad de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ de KOH	2.0×10^{-2}	2.0×10^{-6}
$[OH^-]$ de agua	1.0×10^{-7}	1.0×10^{-7}
Total $[OH^-]$	2.00001×10^{-2}	2.1×10^{-6}

Una vez que se ha llegado a una decisión acerca de la importancia de la contribución por el agua, es factible calcular el pH como se mencionó.

Los ejemplos anteriores suponen que la base fuerte KOH está por completo disociada en solución y que, entonces, la concentración de iones OH^- fue igual a la del KOH más la presente al principio en el agua. Esta suposición es válida para soluciones diluidas de bases o ácidos fuertes, no así para bases o ácidos débiles. Dado que los electrólitos débiles sólo se disocian un poco en solución, es necesario usar la **constante de disociación** para calcular la concentración de $[H^+]$ (o de $[OH^-]$) producida por una molaridad dada de un ácido (o base) débil antes de calcular el $[H^+]$ total (o el $[OH^-]$ total) y después el pH.

Los grupos funcionales que son ácidos débiles tienen gran importancia fisiológica

Muchas sustancias bioquímicas poseen grupos funcionales que son ácidos o bases débiles. Los grupos carboxilo, los grupos amino y los ésteres de fosfato, cuya segunda disociación cae dentro del rango siológico, están presentes en proteínas y ácidos nucleicos, en casi todas las coenzimas y en casi todos los metabolitos intermediarios. De este modo, el conocimiento de la disociación de ácidos y bases débiles es básico para entender la in uencia del pH intracelular sobre la estructura y la actividad biológica. Las separaciones basadas en carga, como la electroforesis y la cromatografía de intercambio iónico, también se entienden mejor en términos de la conducta de disociación de grupos funcionales.

La especie protonada (p. ej., HA o $R—NH_3^+$) recibe la denominación de **ácido,** en tanto que la especie no protonada (p. ej., A^- o $R—NH_2$) es su **base conjugada**. De modo similar, puede hacerse referencia a una **base** (p. ej., A^- o $R—NH_2$) y su **ácido conjugado** (p. ej., HA o $R—NH_3^+$). Los ácidos débiles representativos (columna izquierda), sus bases conjugadas (al centro) y valores de pK_a (columna derecha) incluyen los siguientes:

$R—CH_2—COOH$	$R—CH_2—COO^-$	$pK_a = 4 - 5$
$R—CH_2—NH_3^+$	$R—CH_2—NH_2$	$pK_a = 9 - 10$
H_2CO_3	HCO_3^-	$pK_a = 6.4$
$H_2PO_4^-$	HPO_4^{-2}	$pK_a = 7.2$

Las fuerzas relativas de ácidos y bases débiles se expresan en función de sus constantes de disociación. A continuación se muestran las expresiones para la constante de disociación (K_a) para dos ácidos débiles representativos, R—COOH y $R—NH_3^+$.

$$R—COOH \quad R—COO^- + H^+$$

$$K_a = \frac{[R—COO^-][H^+]}{[R—COOH]}$$

$$R—NH_3^+ \quad R—NH_2 + H^+$$

$$K_a = \frac{[R—NH_2][H^+]}{[R—NH_3^+]}$$

Dado que los valores numéricos de K_a para ácidos débiles son números exponenciales negativos, K_a se expresa como pK_a, donde

$$pK_a = -\log K_a$$

Note que pK_a se relaciona con K_a como el pH se relaciona con $[H^+]$. Mientras más fuerte es el ácido, más bajo es el valor de pK_a.

El pK_a se usa para expresar las fuerzas relativas tanto de ácidos como de bases. Para cualquier ácido débil, su conjugado es una base fuerte; de modo similar, el conjugado de una base fuerte es un ácido débil. Las fuerzas relativas de bases se expresan en términos del pK_a de sus ácidos conjugados. Para compuestos polipróticos que contienen más de un protón disociable, se asigna un número subíndice a cada disociación en orden de acidez relativa. Para una disociación del tipo

$$R—NH_3^+ \rightarrow R—NH_2 + H^+$$

el pK_a es el pH al cual la concentración del ácido $R—NH_3^+$ es igual a la de la base $R—NH_2$.

A partir de las ecuaciones anteriores que relacionan la K_a con el $[H^+]$ y con las concentraciones de ácido no disociado y su base conjugadas, cuando

$$[R—COO^-] = [R—COOH]$$

o cuando

$$[R—NH_2] = [R—NH_3^+]$$

entonces

$$K_a = [H^+]$$

De este modo, cuando las especies asociada (protonada) y disociada (base conjugada) están presentes a iguales concentraciones, la concentración de ion hidrógeno $[H^+]$ prevaleciente es igual desde el punto de vista numérico a la constante de disociación, K_a. Si se toman los logaritmos de ambos lados de la ecuación anterior y se multiplican por –1, las expresiones quedan como sigue:

$$K_a = [H^+]$$

$$-\log K_a = -\log [H^+]$$

Dado que $-\log K_a$ se define como pK_a y $-\log [H^+]$ define al pH, la ecuación puede reescribirse como

$$pK_a = pH$$

esto es, el pK_a de un grupo ácido es el pH al cual las especies protonada y no protonada están presentes a concentraciones iguales. El pK_a para un ácido puede determinarse al añadir 0.5 equivalente de álcali por equivalente de ácido. El pH resultante será igual al pK_a del ácido.

La ecuación de Henderson-Hasselbalch describe el comportamiento de ácidos débiles y amortiguadores

La ecuación de Henderson-Hasselbalch se deduce a continuación.

Un ácido débil, HA, se ioniza como sigue:

$$HA \quad H^+ + A^-$$

La constante de equilibrio para esta disociación es

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

La multiplicación cruzada da

$$[H^+][A^-] = K_a[HA]$$

Se dividen ambos lados entre $[A^-]$:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se toma el logaritmo de ambos lados:

$$\log [H^+] = \log \left(K_a \frac{[HA]}{[A^-]} \right)$$

$$= \log K_a + \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se multiplica todo por –1:

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Se sustituye el pH y el pK_a para $-\log [H^+]$ y $-\log K_a$, respectivamente; entonces:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

La inversión del último término elimina el signo de menos y da la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\mathbf{pH = p}K_\mathbf{a} + \mathbf{\log \frac{[A^-]}{[HA]}}$$

La ecuación de Henderson-Hasselbalch tiene gran valor predictivo en equilibrios protónicos. Por ejemplo,

1. Cuando la mitad de un ácido está exactamente neutralizada, $[A^-] = [HA]$. En estas condiciones,

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = pK_a + \log \frac{1}{1} = pK_a + 0$$

Por ende, cuando la mitad de un ácido está neutralizada, pH = pK_a.

2. Cuando la proporción $[A^-]/[HA] = 100{:}1$,

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$pH = pK_a + \log 100/1 = pK_a + 2$$

3. Cuando la proporción $[A^-]/[HA] = 1{:}10$,

$$pH = pK_a + \log 1/10 = pK_a + (-1)$$

Si la ecuación se evalúa a proporciones de $[A^-]/[HA]$ que varían desde 10^3 hasta 10^{-3} y se gra can los valores de pH calculados, el grá co resultante describe la curva de titulación para un ácido débil (g. 2-4).

Las soluciones de ácidos débiles y sus sales amortiguan cambios del pH

Las soluciones de ácidos o bases débiles y sus conjugados muestran amortiguación, la capacidad para resistir a un cambio del pH después de la adición de un ácido o una base fuerte. Dado que muchas reacciones metabólicas se acompañan de liberación o captación de protones, casi todas las reacciones intracelulares están amortiguadas. El metabolismo oxidativo produce CO_2, el anhídrido del ácido carbónico, que de no amortiguarse produciría acidosis grave. El mantenimiento de un pH constante comprende amortiguación mediante fosfato, bicarbonato y proteínas, que aceptan o liberan protones para resistir a un cambio del pH. En experimentos donde se usan extractos de tejido o enzimas, el pH constante se mantiene por medio de la adición de amortiguadores como MES (ácido [2-*N*-morfolino] etanosulfónico, pK_a 6.1), ortofosfato inorgánico (pK_{a2} 7.2), HEPES (ácido *N*-hidroxietilpiperazina-*N*′-2-etanosulfónico, pK_a 6.8) o Tris (tris[hidroximetil] aminometano, pK_a 8.3). El valor de pK_a respecto al pH deseado es el principal determinante de cuál amortiguador se selecciona.

La amortiguación se observa al usar un medidor de pH mientras se titula un ácido o una base débil (g. 2-4). También es factible calcular la desviación de pH que acompaña a la adición de ácido o base a una solución amortiguada. En el ejemplo, la solución amortiguada (un ácido débil, $pK_a = 5.0$, y su base conjugada) se encuentra, al inicio, en uno de cuatro valores de pH; se calcula el cambio de pH producido cuando se añaden 0.1 meq de KOH a 1 meq de cada solución:

pH Inicial	5.00	5.37	5.60	5.86
$[A^-]_{inicial}$	0.50	0.70	0.80	0.88
$[HA]_{inicial}$	0.50	0.30	0.20	0.12
$([A^-]/[HA])_{inicial}$	1.00	2.33	4.00	7.33
La adición de 0.1 meq de KOH produce				
$[A^-]_{final}$	0.60	0.80	0.90	0.98
$[HA]_{final}$	0.40	0.20	0.10	0.02
$([A^-]/[HA])_{final}$	1.50	4.00	9.00	49.0
$\log([A^-]/[HA])_{final}$	0.18	0.60	0.95	1.69
pH final	5.18	5.60	5.95	6.69
ΔpH	**0.18**	**0.60**	**0.95**	**1.69**

Note que el cambio de pH por meq de OH^- añadido depende del pH inicial. La solución se resiste a cambios del pH con mayor e cacia a valores de pH cercanos al pK_a. Una solución de un ácido débil y su base conjugada amortigua de manera más e caz en el rango de pH de $pK_a \pm 1.0$ unidades de pH.

La gura 2-4 también ilustra la carga neta en una molécula del ácido como una función del pH. Una carga fraccionaria de –0.5 no signi ca que una molécula individual porta una carga fraccionaria sino que la *probabilidad* es de 0.5 de que una molécula dada tenga una carga negativa de unidad en cualquier momento dado en el tiempo. La consideración de la carga neta sobre macromoléculas como una función del pH proporciona la base para técnicas de separación, como la cromatografía de intercambio de ion y la electroforesis.

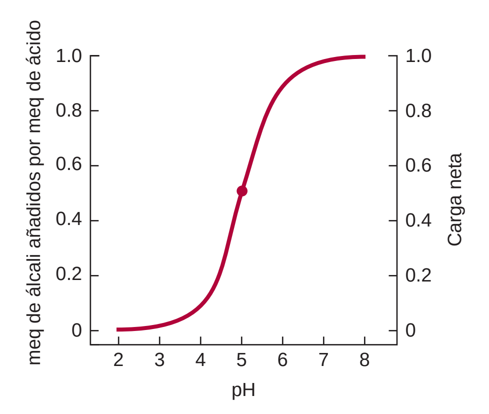


FIGURA 2-4 Curvas de titulación para un ácido del tipo HA. El punto grueso, en el centro de la curva, indica el pK_a de 5.0.

La fuerza del ácido depende de la estructura molecular

Muchos ácidos de interés biológico poseen más de un grupo que se disocia. La presencia de carga negativa adyacente obstaculiza la liberación de un protón desde un grupo cercano, lo que aumenta su pK_a. Esto queda de mani esto a partir de los valores de pK_a para los tres grupos que se pueden disociar de ácido fosfórico y ácido cítrico (cuadro 2-2). El efecto de la carga adyacente disminuye con la distancia. El segundo pK_a para el ácido succínico, que tiene dos grupos metileno entre sus grupos carboxilo, es de 5.6, mientras que el segundo pK_a para el ácido glutárico, que tiene un grupo metileno adicional, es de 5.4.

Los valores de pK_a dependen de las propiedades del medio

El pK_a de un grupo funcional también está profundamente in uido por el medio circundante. El medio puede aumentar o disminuir el pK_a dependiendo de si el ácido no disociado o su base conjugada es la especie cargada. El efecto de la constante dieléctrica sobre el pK_a

CUADRO 2-2 Fuerzas relativas de ácidos seleccionados de importancia biológica[1]

Ácidos monopróticos		
Fórmico	pK	3.75
Láctico	pK	3.86
Acético	pK	4.76
Ion amonio	pK	9.25
Ácidos dipróticos		
Carbónico	pK_1	6.37
	pK_2	10.25
Succínico	pK_1	4.21
	pK_2	5.64
Glutárico	pK_1	4.34
	pK_2	5.41
Ácidos tripróticos		
Fosfórico	pK_1	2.15
	pK_2	6.82
	pK_3	12.38
Cítrico	pK_1	3.08
	pK_2	4.74
	pK_3	5.40

[1]**Nota:** los valores tabulados son los valores de pK_a (–log de la constante de disociación) de ácidos monopróticos, dipróticos y tripróticos seleccionados.

se observa al añadir etanol a agua. El pK_a de un ácido carboxílico *aumenta*, mientras que la de una amina *disminuye*, porque el etanol aminora la capacidad del agua para disolver una especie cargada. De este modo, los valores de pK_a de grupos que se están disociando en los interiores de proteínas, están muy afectados por su ambiente local, lo que incluye la presencia o ausencia de agua.

RESUMEN

- El agua forma agrupaciones de enlaces de hidrógeno consigo misma y con otros donadores o aceptores de protones. Los enlaces de hidrógeno explican la tensión super cial, viscosidad, estado líquido a temperatura ambiente y el poder solvente del agua.
- Los compuestos que contienen O, N o S pueden servir como donadores o aceptores de enlaces de hidrógeno.
- Las macromoléculas intercambian enlaces de hidrógeno de super cie interna por enlaces de hidrógeno con agua. Las fuerzas entrópicas dictan que las macromoléculas exponen regiones polares a una interfaz acuosa y resguardan regiones no polares.
- Los puentes de sal, las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de van der Waals participan en el mantenimiento de la estructura molecular.
- El pH es el logaritmo negativo de $[H^+]$. Un pH bajo caracteriza a una solución ácida, mientras que un pH alto denota una solución básica.
- La fuerza de ácidos débiles se expresa mediante el pK_a, el logaritmo negativo de la constante de disociación de ácido. Los ácidos fuertes tienen valores de pK_a bajos, en tanto que los débiles muestran valores de pK_a altos.
- Los amortiguadores resisten a un cambio del pH cuando se producen o consumen protones. La capacidad amortiguadora máxima ocurre ± 1 unidad de pH a uno u otro lado del pK_a. Los amortiguadores siológicos son bicarbonato, ortofosfato y proteínas.

REFERENCIAS

Reese KM: Whence came the symbol pH. Chem & Eng News 2004;82:64.
Segel IM: *Biochemical Calculations*. Wiley, 1968.
Stillinger FH: Water revisited. Science 1980;209:451.
Suresh SJ, Naik VM: Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. J Chem Phys 2000;113:9727.
Wiggins PM: Role of water in some biological processes. Microbiol Rev 1990;54:432.

SECCIÓN I ESTRUCTURAS Y FUNCIONES DE PROTEÍNAS Y ENZIMAS

C A P Í T U L O

3

Aminoácidos y péptidos

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de proporcionar las unidades monómero a partir de las cuales se sintetizan las cadenas polipeptídicas largas de proteínas, los l-α-aminoácidos y sus derivados participan en funciones celulares tan diversas como la transmisión nerviosa y la biosíntesis de por rinas, purinas, pirimidinas y urea. Los polímeros cortos de aminoácidos llamados *péptidos* desempeñan funciones importantes en el sistema neuroendocrino como hormonas, factores liberadores de hormona, neuromoduladores o neurotransmisores. Si bien las proteínas sólo contienen l-α-aminoácidos, los microorganismos elaboran péptidos que contienen tanto d- como l-α-aminoácidos. Varios de estos péptidos tienen valor terapéutico, entre ellos los antibióticos bacitracina y gramicidina A, así como el antitumoral bleomicina. Otros péptidos microbianos son tóxicos. Los péptidos cianobacterianos microcistina y nodularina son mortales en grandes dosis, mientras que en cantidades pequeñas promueven la formación de tumores hepáticos. Los seres humanos y otros animales superiores carecen de la capacidad para sintetizar 10 de los 20 l-α-aminoácidos comunes en cantidades apropiadas para apoyar el crecimiento de lactantes o mantener la salud en adultos. En consecuencia, la dieta humana debe contener cantidades adecuadas de estos aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional.

PROPIEDADES DE LOS AMINOÁCIDOS

El código genético especifica 20 L-α-aminoácidos

De los más de 300 aminoácidos que existen de manera natural, 20 constituyen las unidades monómero de proteínas. Si bien un código genético de tres letras no redundante podría tener cabida para más de 20 aminoácidos, su redundancia limita los codones disponibles a los 20 l-α-aminoácidos listados en el cuadro 3-1, mismos que se clasi can de acuerdo con la polaridad de sus grupos R. Pueden usarse abreviaturas tanto de una como de tres letras para cada aminoácido a n de representar los aminoácidos en péptidos y proteínas (cuadro 3-1). Algunas proteínas contienen aminoácidos adicionales que surgen por modi cación de un aminoácido ya presente en un péptido. Los ejemplos incluyen conversión de peptidil prolina y lisina en 4-hidroxiprolina y 5-hidroxilisina; la conversión de peptidil glutamato en γ-carboxiglutamato, y la metilación, formilación, acetilación, prenilación y fosforilación de ciertos residuos aminoacilo. Dichas modi caciones extienden la diversidad biológica de las proteínas al alterar su solubilidad, estabilidad e interacción con otras proteínas.

Selenocisteína, ¿el vigesimoprimer L-α-aminoácido?

La selenocisteína es un l-α-aminoácido que se encuentra en un puñado de proteínas, entre ellas ciertas peroxidasas y reductasas, donde participa en la catálisis de reacciones de transferencia de electrón. Como su nombre lo indica, un átomo de selenio remplaza el azufre de su análogo estructural, la cisteína. El pK_3 de la selenocisteína, 5.2, es tres unidades menor que la de la cisteína. Dado que la selenocisteína se inserta en polipéptidos durante la traducción, por lo general es conocida como el "vigesimoprimer aminoácido". Sin embargo, al contrario de los otros aminoácidos codi cados mediante mecanismos genéticos, la selenocisteína no es especi cada por un codón de tres letras simple (cap. 27).

En las proteínas sólo existen L-α-aminoácidos

Con la única excepción de la glicina, el carbono α de aminoácidos es quiral. Si bien algunos aminoácidos de proteínas son dextrorrotatorios y otros levorrotatorios, todos comparten la con guración

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en proteínas

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales alifáticas			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Glicina	Gli [G]	$H-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.8	
Alanina	Ala [A]	$CH_3-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.9	
Valina	Val [V]	$(H_3C)_2CH-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.7	
Leucina	Leu [L]	$(H_3C)_2CH-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.7	
Isoleucina	Ile [I]	$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.3	9.8	
Con cadenas laterales que contienen grupos hidroxílicos (OH)					
Serina	Ser [S]	$CH_2(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	alrededor de 13
Treonina	Tre [T]	$CH_3-CH(OH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.1	alrededor de 13
Tirosina	Tir [Y]	Véase más adelante			
Con cadenas laterales que contienen átomos de azufre					
Cisteína	Cis [C]	$CH_2(SH)-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.9	10.8	8.3
Metionina	Met [M]	$CH_2(S-CH_3)-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.3	
Con cadenas laterales que contienen grupos acídicos o sus amidas					
Ácido aspártico	Asp [D]	$^-OOC-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.9	3.9
Asparagina	Asn [N]	$H_2N-C(=O)-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	8.8	
Ácido glutámico	Glu [E]	$^-OOC-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.1	9.5	4.1
Glutamina	Gln [Q]	$H_2N-C(=O)-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.1	

(*continúa*)

CUADRO 3-1 L-α-aminoácidos presentes en proteínas *(continuación)*

Nombre	Símbolo	Fórmula estructural	pK_1	pK_2	pK_3
Con cadenas laterales que contienen grupos básicos			**α-COOH**	**α-NH_3^+**	**Grupo R**
Arginina	Arg [R]	$H-N(-C(=NH_2^+)-NH_2)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.8	9.0	12.5
Lisina	Lis [K]	$CH_2(NH_3^+)-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	10.8
Histidina	His [H]	imidazol (HN, N)$-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	1.8	9.3	6.0
Que contienen anillos aromáticos					
Histidina	His [H]	Véase más adelante			
Fenilalanina	Fen [F]	fenil$-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.2	
Tirosina	Tir [Y]	$HO-$fenil$-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.2	9.1	10.1
Triptófano	Trp [W]	indol (N–H)$-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	2.4	9.4	
Iminoácido					
Prolina	Pro [P]	pirrolidina ($\overset{+}{N}H_2$)$-COO^-$	2.0	10.6	

absoluta de l-gliceraldehído y, así, son l-α-aminoácidos. Varios l-α-aminoácidos libres desempeñan importantes funciones en procesos metabólicos. Algunos ejemplos incluyen ornitina, citrulina y argininosuccinato, que participan en la síntesis de la urea; la tirosina en la formación de hormonas tiroideas, y el glutamato en la biosíntesis de neurotransmisor. Los d-aminoácidos que existen de manera natural incluyen la d-serina y el d-aspartato libres en el tejido cerebral, la d-alanina y el d-glutamato en las paredes celulares de bacterias grampositivas, y d-aminoácidos en ciertos péptidos y antibióticos producidos por bacterias, hongos, reptiles y otras especies no mamíferas.

Los aminoácidos pueden tener carga neta positiva, negativa o de cero

La forma cargada y la no cargada de los grupos ácidos débiles —COOH y —NH_3^+ ionizables existen en solución en equilibrio protónico:

$$R-COOH \quad R-COO^- + H^+$$
$$R-NH_3^+ \quad R-NH_2 + H^+$$

Si bien tanto el R—COOH como el R—NH_3^+ son ácidos débiles, R—COOH es un ácido mucho más fuerte que R—NH_3^+. A pH -siológico (pH de 7.4), los grupos carboxilo existen casi por completo como R—COO^- y los grupos amino de manera predominante como R—NH_3^+. La gura 3-1 ilustra el efecto del pH sobre el estado cargado de ácido aspártico.

Las moléculas que contienen un igual número de grupos ionizables de carga opuesta y que, por ende, no portan carga neta, reciben el nombre de **zwitteriones**. De este modo, los aminoácidos en sangre y casi todos los tejidos deben representarse como en **A**, a continuación.

NH_3^+, R, O^-, O — **A**

NH_2, R, OH, O — **B**

La estructura **B** no puede existir en solución acuosa, porque a cualquier pH lo bastante bajo como para protonar el grupo carboxilo,

A
En ácido fuerte (por debajo de pH 1); carga neta = +1

B
Alrededor de pH 3; carga neta = 0

C
Alrededor de pH 6–8; carga neta = –1

D
En álcali fuerte (por arriba de pH 11); carga neta = –2

FIGURA 3-1 Equilibrios protónicos del ácido aspártico.

también estaría protonado el grupo amino. De modo similar, a cualquier pH su cientemente alto como para que predomine un grupo amino no cargado, un grupo carboxilo estará presente como R—COO^-. Sin embargo, la representación **B** no cargada a menudo se usa para reacciones que no comprenden equilibrios protónicos.

Los valores de pK_a expresan las potencias de ácidos débiles

Las potencias ácidas de ácidos débiles se expresan como su **pK_a**. Para moléculas con múltiples protones disociables, el pK_a para cada grupo acídico es designado al remplazar la letra "a" subíndice por un número (cuadro 3-1). El grupo imidazol de la histidina y el grupo guanidino de la arginina existen como híbridos de resonancia con carga positiva distribuida entre ambos nitrógenos (histidina) o entre los tres nitrógenos (arginina) (g. 3-2). La carga neta de un aminoácido —la suma algebraica de todos los grupos con carga positiva y negativa presentes— depende de los valores de pK_a de sus grupos funcionales y del pH del medio circundante. Alterar la carga sobre aminoácidos y sus derivados al variar el pH facilita la separación física de aminoácidos, péptidos y proteínas (cap. 4).

A su pH isoeléctrico (pI), un aminoácido no porta carga neta

Los zwitteriones son un ejemplo de una especie **isoeléctrica,** la forma de una molécula que tiene un número igual de cargas positivas y negativas y, así, es neutral desde el punto de vista eléctrico. El pH isoeléctrico, también llamado pI, es el pH a la mitad entre valores de pK_a a ambos lados de las especies isoeléctricas. Para un aminoácido como la alanina que sólo tiene dos grupos que se disocian, no hay ambigüedad. El primer pK_a (R—COOH) es 2.35, y el segundo (R—NH_3^+) es 9.69; de este modo, el pH isoeléctrico (pI) de la alanina es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.35 + 9.69}{2} = 6.02$$

Para ácidos polifuncionales, el pI también es el pH a la mitad entre los valores de pK_a en ambos lados de las especies isoiónicas. Así, por ejemplo, el pI para el ácido aspártico es

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{2.09 + 3.96}{2} = 3.02$$

Para la lisina, el pI se calcula a partir de:

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_2 + \text{p}K_3}{2}$$

Consideraciones similares se aplican a todos los ácidos polipróticos (p. ej., proteínas), al margen del número de grupos en disociación presentes. En el laboratorio clínico, el conocimiento del pI guía la selección de condiciones para separaciones electroforéticas; por ejemplo, la electroforesis a pH de 7.0 separará dos moléculas con valores de pI de 6.0 y 8.0, porque a pH de 7.0 la molécula con un pI de 6.0 tendrá una carga positiva neta, en tanto que aquella con un pI de 8.0 posee una carga negativa neta. Aplican consideraciones similares al entendimiento de separaciones cromatográ cas sobre apoyos iónicos, como dietilaminoetil (DEAE) celulosa (cap. 4).

FIGURA 3-2 Híbridos de resonancia de las formas protonadas de los grupos R de la histidina y arginina.

Los valores de pK_a varían con el ambiente

El ambiente de un grupo disociable afecta a su pK_a; así, los valores de pK_a de los grupos R de aminoácidos libres en solución acuosa (cuadro 3-1) sólo proporcionan una guía aproximada para los valores de pK_a de los mismos aminoácidos cuando están presentes en proteínas. Un ambiente polar favorece la forma cargada (R—COO^- o R—NH_3^+), y uno no polar, la forma no cargada (R—COOH o R—NH_2). De este modo, un ambiente no polar *aumenta* el pK_a de un grupo carboxilo (convirtiéndolo en un ácido más débil) pero *disminuye* la de un grupo amino (lo que hace que sea un ácido más fuerte). La presencia de grupos cargados adyacentes puede reforzar o contrarrestar efectos solventes, de manera que el pK_a de un grupo

CUADRO 3-2 Rango típico de valores de pK_a para grupos ionizables en proteínas

Grupo en disociación	Rango de pK_a
Carboxilo α	3.5 a 4.0
COOH no α de Asp o Glu	4.0 a 4.8
Imidazol de His	6.5 a 7.4
SH de Cis	8.5 a 9.0
OH de Tir	9.5 a 10.5
α-Amino	8.0 a 9.0
ϵ-Amino de Lis	9.8 a 10.4
Guanidinio de Arg	~12.0

funcional dependerá de su localización dentro de una proteína dada. Las variaciones de pK_a pueden abarcar unidades de pH enteras (cuadro 3-2). Los valores de pK_a que divergen de los listados por hasta tres unidades de pH son frecuentes en los sitios activos de enzimas. Un ejemplo extremo, un ácido aspártico sepultado de tiorredoxina, tiene un pK_a de más de 9 (¡una desviación de más de 6 unidades de pH!).

La solubilidad de aminoácidos refleja su carácter iónico

Los grupos funcionales cargados de aminoácidos aseguran que son solvatados con facilidad por —y, así, son solubles en— solventes polares como el agua y el etanol, pero son insolubles en solventes no polares, como benceno, hexano o éter.

Los aminoácidos no absorben luz visible y, así, son incoloros. Sin embargo, la tirosina, fenilalanina y en especial el triptófano, absorben luz ultravioleta de longitud de onda alta (250 a 290 nm). Dado que absorbe luz ultravioleta con una eficiencia unas 10 veces mayor que la fenilalanina o la tirosina, el triptófano hace la principal contribución a la capacidad de casi todas las proteínas para absorber luz en la región de 280 nm.

LOS GRUPOS α-R DETERMINAN LAS PROPIEDADES DE AMINOÁCIDOS

Dado que la glicina, el aminoácido de menor tamaño, puede adaptarse en lugares inaccesibles a otros aminoácidos, a menudo se encuentra donde los péptidos muestran flexión aguda. Los grupos R hidrofóbicos de la alanina, valina, leucina e isoleucina, y los grupos R aromáticos de la fenilalanina, tirosina y triptófano, típicamente se encuentran de manera primaria en el interior de proteínas citosólicas. Los grupos R cargados de aminoácidos básicos y acídicos estabilizan conformaciones proteínicas específicas por medio de interacciones iónicas o puentes salinos. Estas interacciones también funcionan en sistemas de "relevo de carga" durante catálisis enzimática y transporte de electrones en mitocondrias que están efectuando respiración. La histidina desempeña funciones singulares en la catálisis enzimática. El pK_a de su protón imidazol permite que funcione a pH neutral como un catalizador básico o ácido. El grupo alcohol primario de la serina y el grupo tioalcohol primario (—SH) de la cisteína son excelentes nucleófilos y pueden funcionar como tales durante la catálisis enzimática. Sin embargo, el grupo alcohol secundario de la treonina, pese a ser un buen nucleófilo, no cumple con una función análoga en la catálisis. Los grupos —OH de la serina, tirosina y treonina también participan en la regulación de la actividad de enzimas cuya actividad catalítica depende del estado de fosforilación de estos residuos.

LOS GRUPOS FUNCIONALES DICTAN LAS REACCIONES QUÍMICAS DE LOS AMINOÁCIDOS

Cada grupo funcional de un aminoácido muestra todas sus reacciones químicas características. Para grupos de ácido carboxílico, tales reacciones incluyen la formación de ésteres, amidas y anhídridos ácidos; en el caso de los grupos amino, comprende acilación, amidación y esterificación; en tanto que para grupos —OH y —SH, conlleva oxidación y esterificación. La reacción de mayor importancia de los aminoácidos es la formación de un enlace péptido (sombreado en la siguiente figura).

Alanil Cisteinil Valina

La secuencia de aminoácidos determina la estructura primaria

El número y el orden de todos los residuos aminoácidos en un polipéptido constituyen su estructura primaria. Los aminoácidos presentes en péptidos reciben el nombre de residuos aminoacilo y obtienen su denominación mediante remplazar los sufijos *-ato* o *-ina* de aminoácidos libres por *-il* (p. ej., alan*il*, aspart*il*, tiros*il*). La nomenclatura de los péptidos está en función de los derivados del residuo aminoacilo carboxilo terminal; por ejemplo, Lis-Leu-Tir-Gln se llama lis*il*-leuc*il*-tiros*il*-glutam*ina*. Así, la terminación *-ina* en la glutamina indica que su grupo carboxilo α *no* participa en la formación del enlace peptídico.

Las estructuras peptídicas son fáciles de dibujar

Los prefijos como *tri-* u *octa-* denotan péptidos con tres u ocho **residuos,** respectivamente. Por convención, los péptidos se escriben con el residuo que porta el grupo amino α libre a la izquierda. Para dibujar un péptido, se usa un zigzag para representar la cadena principal o esqueleto. Se añaden los principales átomos de la cadena, mismos que se presentan en el orden de repetición: nitrógeno α, carbono α, carbono carbonilo. Ahora se adiciona un átomo de hidrógeno a cada carbono α, y a cada nitrógeno péptido, y un oxígeno

al carbono carbonilo. Por último, se añaden los grupos R apropiados (sombreados en la siguiente gura) a cada átomo de carbono α.

Las abreviaturas de tres letras enlazadas por líneas rectas representan una estructura primaria no ambigua. Las líneas se omiten para abreviaturas de una sola letra.

Glu - Ala - Lis - Gli - Tir - Ala
E A K G Y A

Algunos péptidos contienen aminoácidos poco comunes

En mamíferos, las hormonas peptídicas en forma típica sólo contienen los aminoácidos α de proteínas enlazados por enlaces peptídicos estándar. Sin embargo, otros péptidos pueden contener aminoácidos no proteínicos, derivados de los aminoácidos proteínicos, o aminoácidos ligados por un enlace peptídico atípico. Por ejemplo, el glutamato amino terminal del glutatión, que participa en el plegado de proteína y en el metabolismo de xenobióticos (cap. 53), está ligado a la cisteína mediante un enlace peptídico no α (g. 3-3). El glutamato amino terminal de la hormona liberadora de tirotropina (TRH) forma un ciclo hacia ácido piroglutámico y el grupo carboxilo del residuo prolilo carboxilo terminal está amidado. Los aminoácidos no proteínicos d-fenilalanina y ornitina están presentes en los antibióticos peptídicos cíclicos tirocidina y gramicidina S, mientras que los opioides heptapeptídicos dermor na y deltoforina en la piel de ranas arborícolas (plataneras) sudamericanas contienen d-tirosina y d-alanina.

Los péptidos son polielectrólitos

El enlace peptídico está no cargado a cualquier pH de interés siológico; por ende, la formación de péptidos a partir de aminoácidos está acompañada de pérdida neta de una carga positiva y una negativa por cada enlace peptídico formado. Sin embargo, los péptidos están cargados a pH siológico debido a sus grupos carboxilo y amino terminales y, donde están presentes, sus grupos R ácidos o básicos. Al igual que para aminoácidos, la carga neta sobre un péptido depende del pH de su ambiente y de los valores de pK_a de sus grupos en disociación.

FIGURA 3-3 Glutatión (γ-glutamil-cisteinil-glicina). Note el enlace peptídico no α que une Glu a Cis.

El enlace peptídico tiene carácter de doble enlace parcial

Aunque los péptidos se escriben como si un enlace único enlazara los átomos carboxilo α y nitrógeno α; este enlace de hecho muestra carácter de doble enlace parcial:

De este modo, no hay libertad de rotación alrededor del enlace que conecta el carbono carbonilo y el nitrógeno de un enlace peptídico. En consecuencia, los átomos de O, C, N y H de un enlace peptídico son coplanares. La semirrigidez impuesta del enlace peptídico tiene consecuencias importantes para la manera en la cual los péptidos y las proteínas se pliegan para generar órdenes de estructura superiores. En la gura 3-4, las echas de color café (marrón) alrededor de los enlaces restantes del esqueleto polipeptídico indican rotación libre.

Las fuerzas no covalentes restringen las conformaciones de péptidos

El plegado de un péptido probablemente ocurre de manera coincidente con su biosíntesis (cap. 37). La conformación activa desde el

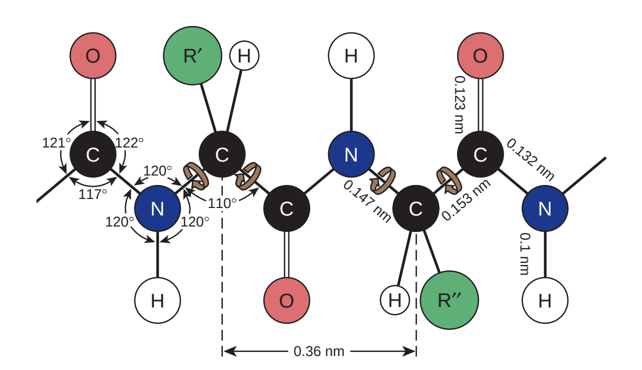


FIGURA 3-4 Dimensiones de una cadena polipeptídica extendida por completo. Los cuatro átomos del enlace peptídico son coplanares. Puede ocurrir rotación libre alrededor de los enlaces que conectan el carbono α con el nitrógeno α y con el carbono carbonilo α (echas de color café). De este modo, la cadena polipeptídica extendida es una estructura semirrígida con dos terceras partes de los átomos del esqueleto sostenidos en una relación planar ja uno con otro. La distancia entre átomos de carbono α adyacentes es de 0.36 nm (3.6 Å). También se muestran las distancias interatómicas y los ángulos de enlace, que no son equivalentes. (Redibujado y reproducido, con autorización, de Pauling L, Corey LP, Branson HR: The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical congurations of the polypeptide chain. Proc Natl Acad Sci USA 1951;37:205.)

punto de vista siológico re eja las contribuciones colectivas de la secuencia de aminoácidos, el obstáculo estérico y las interacciones no covalentes (p. ej., formación de enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas) entre residuos. Las conformaciones frecuentes comprenden hélices α y hojas plegadas β (cap. 5).

ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS DE MATERIALES BIOLÓGICOS

A n de determinar la identidad y cantidad de cada aminoácido en una muestra de material biológico, primero es necesario hidrolizar los enlaces peptídicos que vinculan entre sí a los aminoácidos, mediante tratamiento con HCl caliente. La mezcla de aminoácidos libres resultante a continuación se trata con 6-amino-*N*-hidroxisuccinimidil carbamato, que reacciona con sus grupos amino α para formar derivados uorescentes que se separan e identi can usando cromatografía líquida de alta presión (cap. 4). La ninhidrina, también ampliamente usada para detectar aminoácidos, forma un producto de color púrpura con aminoácidos α, y un aducto de color amarillo con los grupos imina de prolina e hidroxiprolina.

RESUMEN

- Tanto los d-aminoácidos como los no-α-aminoácidos existen en la naturaleza, pero sólo los l-α-aminoácidos están presentes en las proteínas.
- Todos los aminoácidos poseen al menos dos grupos funcionales débilmente acídicos, R—NH_3^+ y R—COOH. Muchos también poseen grupos funcionales débilmente acídicos adicionales, como —OH, —SH, guanidino o porciones imidazol.
- Los valores de pK_a de todos los grupos funcionales de un aminoácido dictan su carga neta a un pH dado. El pI es el pH al cual un aminoácido no porta carga neta y así no se mueve en un campo eléctrico de corriente directa.
- De las reacciones bioquímicas de aminoácidos, la más importante es la formación de enlaces peptídicos.
- Los grupos R de aminoácidos determinan sus funciones bioquímicas singulares. Con base en las propiedades de sus grupos R, los aminoácidos se clasi can como básicos, acídicos, aromáticos, alifáticos o que contienen azufre.
- Los péptidos reciben su nombre por el número de residuos aminoácidos presentes y como derivados del residuo carboxilo terminal. La estructura primaria de un péptido es su secuencia de aminoácidos, empezando a partir del residuo amino terminal.
- El carácter de doble enlace parcial del enlace que une el carbono carbonilo y el nitrógeno de un péptido hace coplanares a los cuatro átomos del enlace peptídico y restringe el número de conformaciones peptídicas posibles.

REFERENCIAS

Doolittle RF: Reconstructing history with amino acid sequences. Protein Sci 1992;1:191.

Gladyschev VN, Hat eld DL: Selenocysteine-containing proteins in mammals. J Biomed Sci 1999;6:151.

Kreil G: d-Amino acids in animal peptides. Annu Rev Biochem 1997;66:337.

Nokihara K, Gerhardt J: Development of an improved automated gas-chromatographic chiral analysis system: application to nonnatural amino acids and natural protein hydrolysates. Chirality 2001;13:431.

Sanger F: Sequences, sequences, and sequences. Annu Rev Biochem 1988;57:1.

Stadtman TC: Selenocysteine. Annu Rev Biochem 1996;65:83.

Wilson NA et al: Aspartic acid 26 in reduced *Escherichia coli* thioredoxin has a pK_a greater than 9. Biochemistry 1995;34:8931.

CAPÍTULO

4

Proteínas: determinación de la estructura primaria

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas son macromoléculas complejas desde los puntos de vista físico y funcional, que desempeñan múltiples funciones de importancia crucial. Una red de proteína interna, el citoesqueleto (cap. 49), mantiene la forma y la integridad física celulares. Filamentos de actina y miosina forman la maquinaria contráctil del músculo (cap. 49). La hemoglobina transporta oxígeno (cap. 6), mientras que los anticuerpos circulantes descubren invasores extraños (cap. 50). Las enzimas catalizan reacciones que generan energía, sintetizan biomoléculas y las degradan, replican genes y los transcriben, procesan mRNA (ácido ribonucleico mensajero), entre otras funciones (cap. 7). Los receptores permiten a las células detectar hormonas y otros indicios ambientales, así como mostrar respuesta a los mismos (caps. 41 y 42). Las proteínas están sujetas a cambios físicos y funcionales que re ejan el ciclo de vida de los organismos en los cuales residen. Una proteína típica nace en el momento de la traducción (cap. 37), madura a través de eventos de procesamiento postraduccional, como proteólisis parcial (caps. 9 y 37), alterna entre estados de trabajo y de reposo por medio de la intervención de factores reguladores (cap. 9), envejece por oxidación, desamidación, etc. (cap. 52), y muere cuando se degrada hacia los aminoácidos que la componen (cap. 29). Un objetivo importante de la medicina molecular es la identi cación de proteínas y los eventos en su ciclo de vida cuya presencia, ausencia o de ciencia se relaciona con estados siológicos o enfermedades especí cos (g. 4-1). La secuencia primaria de una proteína proporciona tanto una huella digital molecular para su identi cación, como información que puede usarse para identi car y clonar el gen o los genes que la codi can.

LAS PROTEÍNAS Y LOS PÉPTIDOS DEBEN PURIFICARSE ANTES DE ANÁLISIS

La proteína muy puri cada es esencial para el examen detallado de sus propiedades físicas y funcionales. Las células contienen miles de proteínas distintas, cada una en cantidades ampliamente variables. De este modo, el aislamiento de una proteína especí ca en cantidades su cientes para análisis, plantea un formidable desafío que puede requerir el uso sucesivo de múltiples técnicas de puri cación. En los métodos clásicos se aprovechan las diferencias de la solubilidad relativa de proteínas individuales en función del pH (precipitación isoeléctrica), polaridad (precipitación con etanol o acetona) o concentración de sal (separación mediante adición de sulfato de amonio). Las separaciones cromatográ cas dividen las moléculas entre dos fases, una móvil y la otra estacionaria. Para la separación de aminoácidos o azúcares, la fase estacionaria, o matriz, puede ser una hoja de papel ltro (cromatografía en papel) o una capa delgada de celulosa, sílice o alúmina (cromatografía en capa delgada [TLC]).

Cromatografía en columna

En la cromatografía en columna de proteínas se emplean como la fase estacionaria pequeñas cuentas esféricas de celulosa modi cada, acrilamida o sílice, cuya super cie típicamente es cubierta con grupos funcionales químicos. Las cuentas están contenidas en un recipiente cilíndrico, o columna, hecho de vidrio, plástico o metal. Estas matrices de fase estacionaria interactúan con las proteínas con base en su carga, hidrofobicidad y propiedades de unión a ligando. Se aplica una mezcla de proteína a la columna y la fase móvil líquida se ltra a través de ella. Pequeñas porciones de la fase móvil o de elución se recolectan a medida que salen (g. 4-2).

Cromatografía de partición

Las separaciones cromatográ cas en columna dependen de la a nidad relativa de diferentes proteínas por una fase estacionaria dada y por la fase móvil. En la cromatografía de partición, la asociación entre cada proteína y la matriz es débil y transitoria. Las proteínas que interactúan de manera más fuerte con la fase estacionaria se retienen más tiempo. El lapso durante el cual una proteína está asociada con la fase estacionaria va en función de la composición de las fases tanto estacionaria como móvil. De este modo, la separación óptima entre la proteína de interés y otras proteínas es alcanzada mediante manipulación cuidadosa de la composición de las dos fases.

Cromatografía de exclusión de tamaño

En la cromatografía de exclusión de tamaño —o ltración en gel— se separan las proteínas con base en su **radio de Stokes**, el radio de la esfera que ocupan a medida que entran en solución. El radio de Stokes es una función de la masa y la forma moleculares. Una proteína alargada que cae ocupa un mayor volumen que una proteína esférica de la misma masa. En la cromatografía de exclusión de tamaño se emplean cuentas porosas (g. 4-3). Los poros son análogos a irregularidades en una ribera de río. A medida que los objetos se mueven torrente abajo, los que entran en una irregularidad se retrasan hasta que regresan a la corriente principal. De modo similar, las proteínas con radios de Stokes demasiado grandes como para entrar en los poros (proteínas excluidas) permanecen en la fase móvil

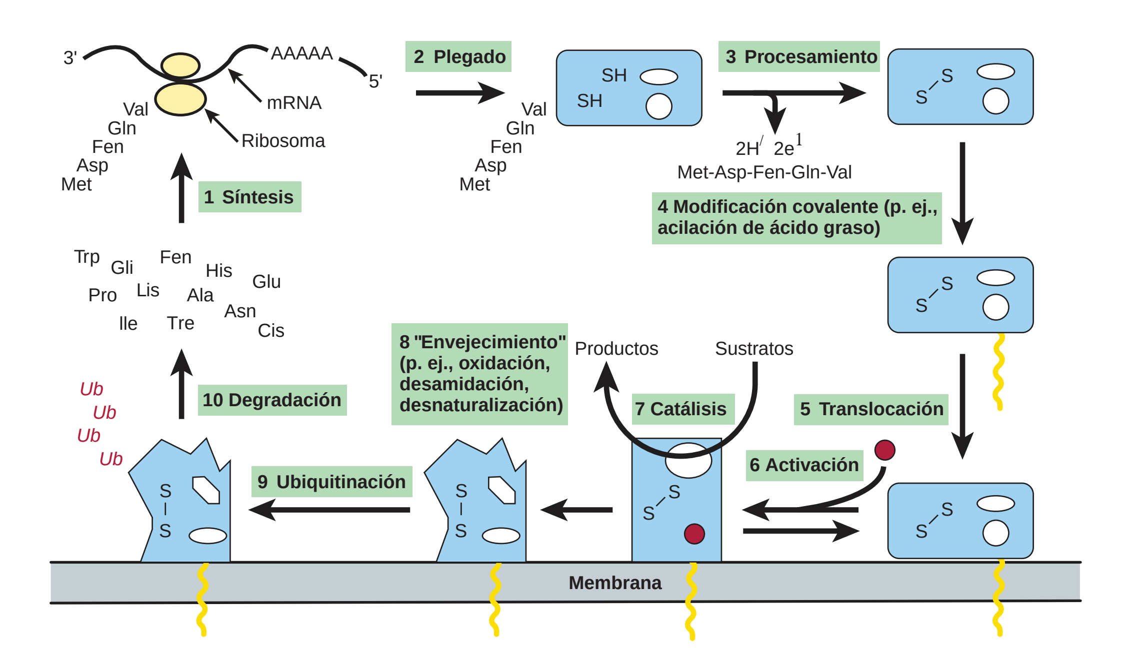


FIGURA 4-1 Representación esquemática del ciclo de vida de una proteína hipotética. **1)** El ciclo de vida empieza con la síntesis en un ribosoma de una cadena polipeptídica, cuya estructura primaria está dictada por un mRNA. **2)** A medida que procede la síntesis, el polipéptido empieza a plegarse hacia su conformación natural (azul). **3)** El plegado puede acompañarse por eventos de procesamiento, como división proteolítica de una secuencia líder *N*-terminal (Met-Asp-Fen-Gln-Val) o la formación de enlaces disulfuro (S—S). **4)** La modificación covalente subsiguiente puede, por ejemplo, fijar una molécula de ácido graso (amarillo) para **5)** translocación de la proteína modificada hacia una membrana. **6)** La unión de un efector alostérico (rojo) puede desencadenar la adopción de una conformación activa desde el punto de vista catalítico. **7)** Con el tiempo, las proteínas quedan dañadas por ataque por sustancias químicas, desamidación o desnaturalización, y **8)** pueden "marcarse" mediante la fijación covalente de varias moléculas de ubiquitina (Ub). **9)** La proteína ubiquitinada después se degrada hacia los aminoácidos que la componen, que quedan disponibles para la síntesis de nuevas proteínas.

que está fluyendo y salen *antes* que las que pueden entrar en los poros (proteínas incluidas). Así, las proteínas surgen a partir de una columna de filtración en gel en orden descendente de sus radios de Stokes.

Cromatografía de absorción

En este caso, la mezcla de proteína es aplicada a una columna bajo condiciones donde la proteína de interés se asocia con la fase estacionaria de manera tan estrecha que su coeficiente de partición es, en esencia, la unidad. Las moléculas que no se adhieren son objeto de elución primero y se desechan. Las proteínas después se liberan de manera secuencial al romper las fuerzas que estabilizan el complejo de proteína-fase estacionaria, más a menudo al usar un gradiente de concentración creciente de sal. La composición de la fase móvil se altera de manera gradual, de modo que las moléculas son liberadas de manera selectiva en orden descendente de su afinidad por la fase estacionaria.

Cromatografía de intercambio iónico

Aquí, las proteínas interactúan con la fase estacionaria mediante interacciones entre una carga y otra. Las proteínas que tienen una carga positiva neta a un pH dado se adhieren a cuentas que tienen grupos funcionales con carga negativa, como carboxilatos o sulfatos (intercambiadores de cationes). De modo similar, las proteínas con una carga negativa neta se adhieren a cuentas que tienen grupos funcionales con carga positiva, por lo general aminas terciarias o cuaternarias (intercambiadores de aniones). Las proteínas, que son polianiones, compiten contra iones monovalentes por unión al soporte —de ahí el término "intercambio iónico"—. Por ejemplo, las proteínas se unen a la dietilaminoetil (DEAE) celulosa al remplazar los contra-iones (por lo general, Cl^- o CH_3COO^-) que neutralizan la amina protonada. Las proteínas unidas se desplazan de manera selectiva mediante aumento gradual de la concentración de iones monovalentes en la fase móvil. Las proteínas muestran elución en orden inverso de la fuerza de sus interacciones con la fase estacionaria.

Puesto que la carga neta sobre una proteína está determinada por el pH (cap. 3), es factible lograr la elución secuencial de proteínas mediante cambiar el pH de la fase móvil. De manera alternativa, una proteína puede quedar sujeta a rondas consecutivas de cromatografía de intercambio iónico, cada una a un pH diferente, de modo que las proteínas que muestran coelución a un pH presentan elución a distintas concentraciones de sal a otro pH.

Cromatografía de interacción hidrofóbica

Separa a proteínas con base en su tendencia a asociarse con una matriz de fase estacionaria cubierta con grupos hidrofóbicos (p. ej., fenil u octil sefarosa [*Sepharose*]). Las proteínas con superficies hidrofóbicas expuestas se adhieren a la matriz por medio de interac-

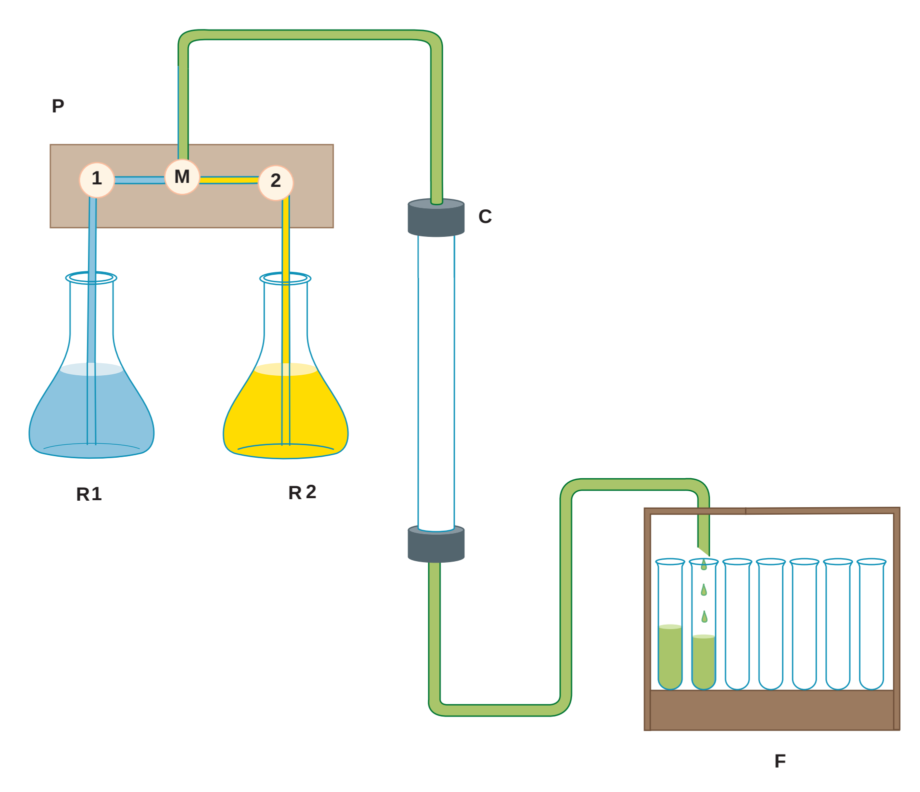


FIGURA 4-2 Componentes de un aparato de cromatografía líquida típico. **R1** y **R2:** reservorios del líquido de fase móvil. **P:** sistema de bombeo programable que contiene dos bombas, 1 y 2, y una cámara de mezcla, **M**. El sistema puede ajustarse para que bombee líquido desde sólo un reservorio, para que cambie reservorios en algún punto predeterminado a fin de generar un gradiente empinado, o para mezclar líquidos desde los dos reservorios en proporciones que varían con el tiempo para crear un gradiente continuo. **C:** columna de vidrio, metal o plástico que contiene la fase estacionaria. **F:** recolector de fracción para recolectar porciones, llamadas *fracciones*, del líquido de elución en tubos de ensayo separados.

ciones hidrofóbicas que son incrementadas mediante una fase móvil de fuerza iónica alta. Las proteínas no adherentes primero se eliminan mediante lavado. A continuación se disminuye la polaridad de la fase móvil al reducir de manera gradual la concentración de sal. Si la interacción entre proteína y fase estacionaria es en particular fuerte, puede añadirse etanol o glicerol a la fase móvil para disminuir su polaridad y debilitar más las interacciones hidrofóbicas.

Cromatografía de afinidad

La cromatografía de afinidad explota la alta selectividad de casi todas las proteínas por sus ligandos. Las enzimas pueden purificarse mediante cromatografía de afinidad usando sustratos, productos, coenzimas o inhibidores inmovilizados. En teoría, sólo se adhieren las proteínas que interactúan con el ligando inmovilizado. A continuación se efectúa elución de las proteínas unidas mediante competencia con ligando soluble o, de manera menos selectiva, al alterar las interacciones entre proteína y ligando usando urea, clorhidrato de guanidina, pH levemente ácido o altas concentraciones de sal. Las matrices de fase estacionaria disponibles en el comercio contienen ligandos como NAD^+ o análogos de trifosfato de adenosina (ATP). Entre las matrices de afinidad más potentes y ampliamente aplicables figuran las que se usan para la purificación de proteínas recombinantes modificadas de manera idónea, las cuales incluyen una matriz de Ni^{2+} que se une a proteínas con una "marca" de polihistidina fija, así como una matriz de glutatión que se une a una proteína recombinante enlazada a glutatión *S*-transferasa.

Los péptidos se purifican mediante cromatografía de alta presión de fase reversa

Las matrices de fase estacionaria usadas en la cromatografía de columna clásica son materiales esponjosos cuya compresibilidad limita el flujo de la fase móvil. En la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se emplean microcuentas de sílice o alúmina incompresibles como la fase estacionaria, y presiones de hasta algunos miles de libras por pulgada cuadrada (psi). Las matrices incompresibles permiten tanto índices de flujo altos como resolución aumentada. La HPLC puede resolver mezclas complejas de lípidos o péptidos cuyas propiedades difieren sólo un poco. En la HPLC de fase reversa se explota una fase estacionaria hidrofóbica de polímeros alifáticos de 3 a 18 átomos de carbono de longitud. Se efectúa elución de las mezclas de péptido usando un gradiente de un solvente orgánico miscible en agua, como acetonitrilo o metanol.

La pureza de las proteínas se evalúa mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)

El método más ampliamente usado para determinar la pureza de una proteína es la SDS-PAGE, electroforesis en gel de poliacrilamida

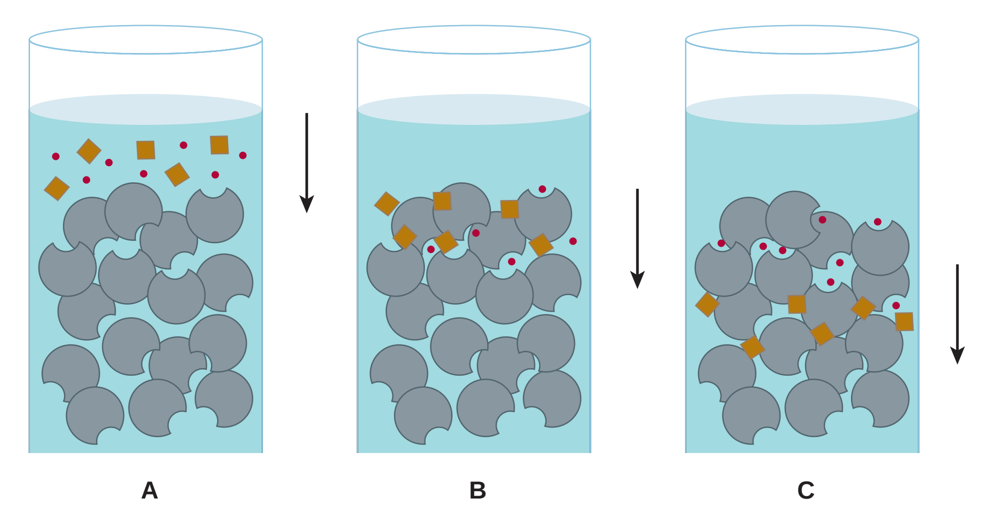


FIGURA 4-3 Cromatografía de exclusión de tamaño. **A:** una mezcla de moléculas grandes (café) y pequeñas (rojo) se aplica en la parte superior de una columna de filtración de gel. **B:** al momento de entrar a la columna, las moléculas pequeñas entran a poros en la matriz de fase estacionaria (gris) de la cual se excluyen las moléculas grandes. **C:** a medida que la fase móvil (azul) fluye por la columna, las moléculas grandes, excluidas, fluyen dentro de la misma, mientras que las pequeñas, que están protegidas de forma temporal del flujo cuando están dentro de los poros, se quedan cada vez más atrás.

(PAGE) en presencia del detergente aniónico duodecil sulfato de sodio (SDS). La electroforesis separa biomoléculas cargadas con base en los índices a los cuales migran en un campo eléctrico aplicado; en cuanto a la SDS-PAGE, la acrilamida se polimeriza y se entrecruza para formar una matriz porosa. La SDS se desnaturaliza y se une a proteínas a una proporción de una molécula de SDS por cada dos enlaces peptídicos. Cuando es utilizada en forma conjunta con 2-mercaptoetanol o ditiotreitol para reducir enlaces disulfuro y romperlos (fig. 4-4), la SDS-PAGE separa los polipéptidos componentes de proteínas multiméricas. El gran número de moléculas de SDS aniónicas, cada una de las cuales porta una carga de –1, abruma las contribuciones de carga de los grupos funcionales aminoácidos endógenos a los polipéptidos. Dado que la proporción entre carga y masa de cada complejo de SDS-polipéptido es más o menos igual, la resistencia física que cada péptido encuentra a medida que se mueve por la matriz de acrilamida determina el índice de migración. Dado que los complejos grandes encuentran mayor resistencia, los polipéptidos se separan con base en su masa molecular relativa (M_r, también conocida como peso molecular). Es factible visualizar polipéptidos individuales atrapados en el gel de acrilamida mediante teñirlos con colorantes como azul de Coomassie (fig. 4-5).

Enfoque isoeléctrico (IEF)

Se usan amortiguadores iónicos llamados anfolitos y un campo eléctrico aplicado para generar un gradiente de pH dentro de una matriz de poliacrilamida. Las proteínas aplicadas migran hasta que llegan a la región de la matriz donde el pH coincide con su punto isoeléctrico (pI), el pH al cual la carga neta de una molécula es cero. El IEF se usa de manera conjunta con SDS-PAGE para la electroforesis bidimensional, que separa polipéptidos con base en el pI en una dimensión y con base en la M_r en la segunda (fig. 4-6). La electroforesis bidimensional resulta idónea para separar los componentes de mezclas de proteínas complejas.

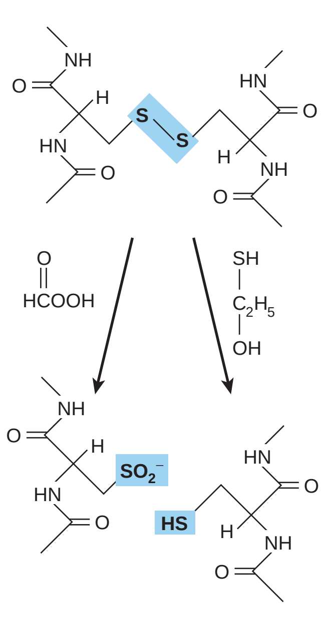


FIGURA 4-4 La división oxidativa de cadenas polipeptídicas adyacentes unidas por medio de enlaces disulfuro (resaltados en azul) al efectuar división en ácido **(izquierda)** o reductiva mediante β-mercaptoetanol **(derecha)** forma dos péptidos que contienen residuos ácido cisteico o residuos cisteinilo, respectivamente.

SANGER FUE EL PRIMERO EN DETERMINAR LA SECUENCIA DE UN POLIPÉPTIDO

La insulina madura consta de la cadena A de 21 residuos y la cadena B de 30 residuos unidas mediante enlaces disulfuro. Frederick Sanger redujo los enlaces disulfuro (fig. 4-4), separó las cadenas A y B, y dividió cada cadena hacia péptidos de menor tamaño usando

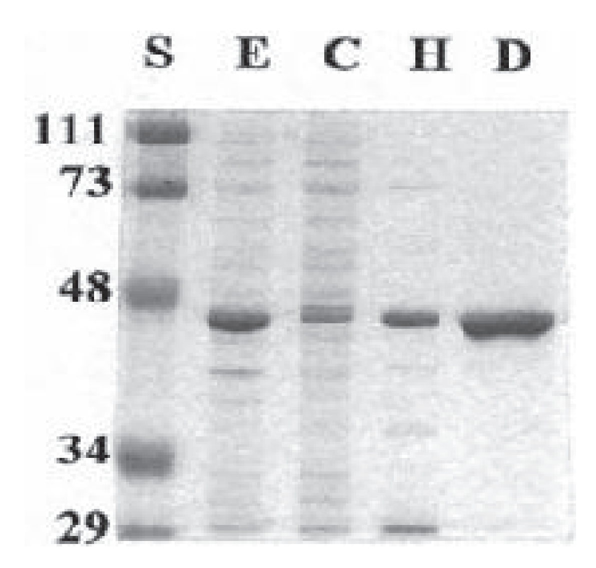


FIGURA 4-5 Uso de SDS-PAGE para observar la puriﬁcación sucesiva de una proteína recombinante. El gel se coloreó con azul de Coomassie. Se muestran estándares de proteína (carril **S**) del M_r indicado, en kDa, extracto celular bruto (**E**), citosol (**C**), líquido sobrenadante a alta velocidad (**H** [por *high-speed*]), y la fracción de DEAE-sefarosa (**D**). La proteína recombinante tiene una masa de alrededor de 45 kDa.

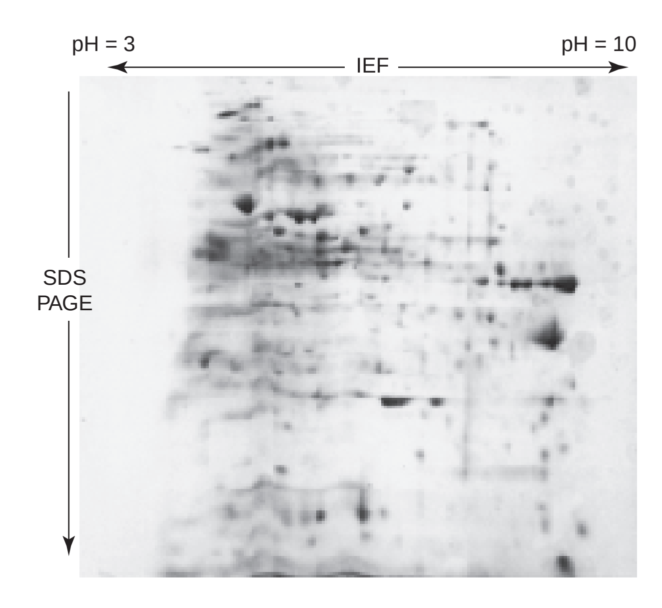


FIGURA 4-6 IEF-SDS-PAGE bidimensionales. El gel se tiñó con azul de Coomassie. Un extracto bacteriano bruto fue sometido primero a enfoque isoeléctrico (IEF) en un gradiente de pH de 3 a 10. A continuación el gel con IEF fue colocado en forma horizontal en la parte superior de un gel de SDS, y después las proteínas se resolvieron más mediante SDS-PAGE. Nótese la resolución muy mejorada de distintos polipéptidos en comparación con gel de SDS-PAGE ordinario (ﬁg. 4-5).

tripsina, quimotripsina y pepsina. Los péptidos resultantes después fueron aislados y tratados con ácido para hidrolizar enlaces peptídicos y generar péptidos con apenas dos o tres aminoácidos. Cada péptido se hizo reaccionar con 1-ﬂuoro-2,4-dinitrobenceno (reactivo de Sanger), que deriva los grupos α-amino expuestos de los residuos amino terminal. Después fue determinado el contenido de aminoácidos de cada péptido e identiﬁcado el aminoácido amino terminal. El grupo ϵ-amino de la lisina también reacciona con el reactivo de Sanger, pero dado que una lisina amino terminal reacciona con 2 mol de dicho reactivo, es fácil distinguirla de una lisina en el interior de un péptido. Al trabajar desde dipéptidos y tripéptidos en adelante por fragmentos de tamaño progresivamente mayor, Sanger logró reconstruir la secuencia completa de la insulina, logro por el cual recibió un premio Nobel en 1958.

LA REACCIÓN DE EDMAN PERMITE SECUENCIAR PÉPTIDOS Y PROTEÍNAS

Pehr Edman introdujo el fenilisotiocianato (reactivo de Edman) para marcar de manera selectiva el residuo amino terminal de un péptido. En contraste con el reactivo de Sanger, el derivado feniltiohidantoína (PTH) se puede eliminar bajo condiciones leves para generar un nuevo residuo amino terminal (ﬁg. 4-7). Por ende, es posible usar rondas sucesivas de derivación con reactivo de Edman para secuenciar muchos residuos de una muestra única de péptido. Si bien es fácil determinar los primeros 20 a 30 residuos de un péptido mediante el método de Edman, casi todos los polipéptidos contienen varios cientos de aminoácidos. En consecuencia, casi todos los polipéptidos primero se deben dividir hacia péptidos de menor tamaño antes de secuenciación de Edman. En ocasiones, la división también es necesaria para sortear modiﬁcaciones postraduccionales que "bloquean" el grupo α-amino de una proteína o que no reaccione con el reactivo de Edman.

A menudo es necesario generar varios péptidos usando más de un método de división. Esto reﬂeja tanto inconsistencia en el espaciamiento de sitios de división susceptibles desde el punto de vista químico o enzimático, como la necesidad de grupos de péptidos cuyas secuencias se superponen, de modo que es posible inferir la secuencia del polipéptido a partir del cual se derivan. Después de la división, los péptidos resultantes se puriﬁcan por medio de HPLC de fase reversa y se secuencian.

LA BIOLOGÍA MOLECULAR REVOLUCIONÓ LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA PRIMARIA

El conocimiento de secuencias de DNA permite deducir las estructuras primarias de polipéptidos. La secuenciación de DNA requiere sólo cantidades diminutas del mismo y con facilidad proporciona la secuencia de cientos de nucleótidos. Para clonar y secuenciar el DNA que codiﬁca para una proteína particular, es esencial contar con algún medio de identiﬁcar la clona correcta, como es el caso del conocimiento sobre una porción de su secuencia de nucleótido. De este modo, ha surgido un método híbrido. La secuenciación de Edman se usa para proporcionar una secuencia de aminoácidos parcial. Así, entonces, es factible utilizar preparadores oligonucleótido modelados sobre esta secuencia parcial para identiﬁcar clonas o para ampliﬁcar el gen apropiado mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) (cap. 39). Una vez que se obtiene una clona de DNA auténtica es posible determinar su secuencia de oligonucleótido, así como

Fenilisotiocianato (reactivo de Edman) y un péptido

Un ácido feniltiohidantoico

H^+, nitrometano

H_2O

Una feniltiohidantoína y un péptido más corto por un residuo

FIGURA 4-7 La reacción de Edman. El fenilisotiocianato deriva el residuo amino terminal de un péptido como un ácido feniltiohidantoico. El tratamiento con ácido en un solvente no hidroxílico libera una feniltiohidantoína, que después se identifica por su movilidad cromatográfica y un péptido con un residuo más corto. A continuación se repite el proceso.

usar el código genético para inferir la estructura primaria del polipéptido codificado.

El método híbrido aumenta la rapidez y la eficacia del análisis de la estructura primaria, así como el rango de proteínas que es posible secuenciar. También evita obstáculos, como la presencia de un grupo bloqueador amino terminal o la falta de un péptido de superposición clave. Sólo algunos segmentos de estructura primaria deben determinarse mediante análisis de Edman.

La secuenciación de DNA revela el orden en el cual se añaden aminoácidos a la cadena polipeptídica naciente, a medida que se sintetiza en el ribosoma. Sin embargo, no proporciona información acerca de modificaciones postraduccionales, como procesamiento proteolítico, metilación, glucosilación, fosforilación, hidroxilación de prolina y lisina, y formación de enlaces disulfuro que acompañan a la maduración. Mientras que la secuenciación de Edman permite detectar la presencia de casi todos los eventos postraduccionales, las limitaciones técnicas a menudo impiden identificar una modificación específica.

LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS DETECTA MODIFICACIONES COVALENTES

A causa de su sensibilidad, rapidez y versatilidad superiores, la espectrometría de masas (MS) ha remplazado a la técnica de Edman como el método principal para determinar las secuencias de péptidos y proteínas. De modo similar, la modificación postraduccional de proteínas mediante la adición o deleción de porciones carbohidrato, o de grupos fosforilo, hidroxilo y otros grupos, añade o sustrae incrementos de masas específicos y fácilmente identificados (cuadro 4-1). De este modo, la espectrometría de masas, que distingue moléculas con base tan sólo en su masa, logra detectar los cambios físicos comparativamente sutiles en proteínas que ocurren durante el ciclo de vida de una célula o de un organismo. En un espectrómetro de masas simple, de cuadripolo único, una muestra en un vacío se vaporiza en condiciones en las cuales puede ocurrir protonación, lo que imparte carga positiva. A continuación, un campo eléctrico impulsa los cationes a través de un campo magnético, que los desvía a un ángulo recto a su dirección de vuelo original y los enfoca sobre un detector (fig. 4-8). Se registra la fuerza magnética necesaria para desviar la vía de cada especie iónica en el detector, medida como la corriente aplicada al electroimán. Para iones de carga neta idéntica, esta fuerza es proporcional a su masa. En un espectrómetro de masas por tiempo de vuelo, un campo eléctrico aplicado de manera breve acelera los iones hacia un detector que registra el momento en el cual llega cada ion. Para moléculas de carga idéntica, la velocidad a la cual se aceleran —y, por ende, el tiempo requerido para llegar al detector— será inversamente proporcional a su masa.

Los espectrómetros de masas convencionales por lo general son utilizados para determinar la masa de moléculas de 4 000 Da o menos, mientras que los espectrómetros de masas por tiempo de vuelo son idóneos para determinar las masas grandes de proteínas. En un inicio, el análisis de péptidos y proteínas mediante espectrometría de masas fue obstaculizado debido a varias dificultades para volatilizar moléculas orgánicas grandes. Si bien las moléculas orgánicas pequeñas podían vaporizarse con facilidad mediante calentamiento en un vacío (fig. 4-9), las proteínas, los oligonucleótidos, etc., quedaban destruidos bajo estas condiciones. Los dos métodos de uso más frecuente para dispersar péptidos, proteínas y otras biomoléculas grandes hacia la fase de vapor para análisis con espectrometría de

CUADRO 4-1 Incrementos de masas originados por modificaciones postraduccionales comunes

Modificación	Incremento de masa (Da)
Fosforilación	80
Hidroxilación	16
Metilación	14
Acetilación	42
Miristilación	210
Palmitoilación	238
Glucosilación	162

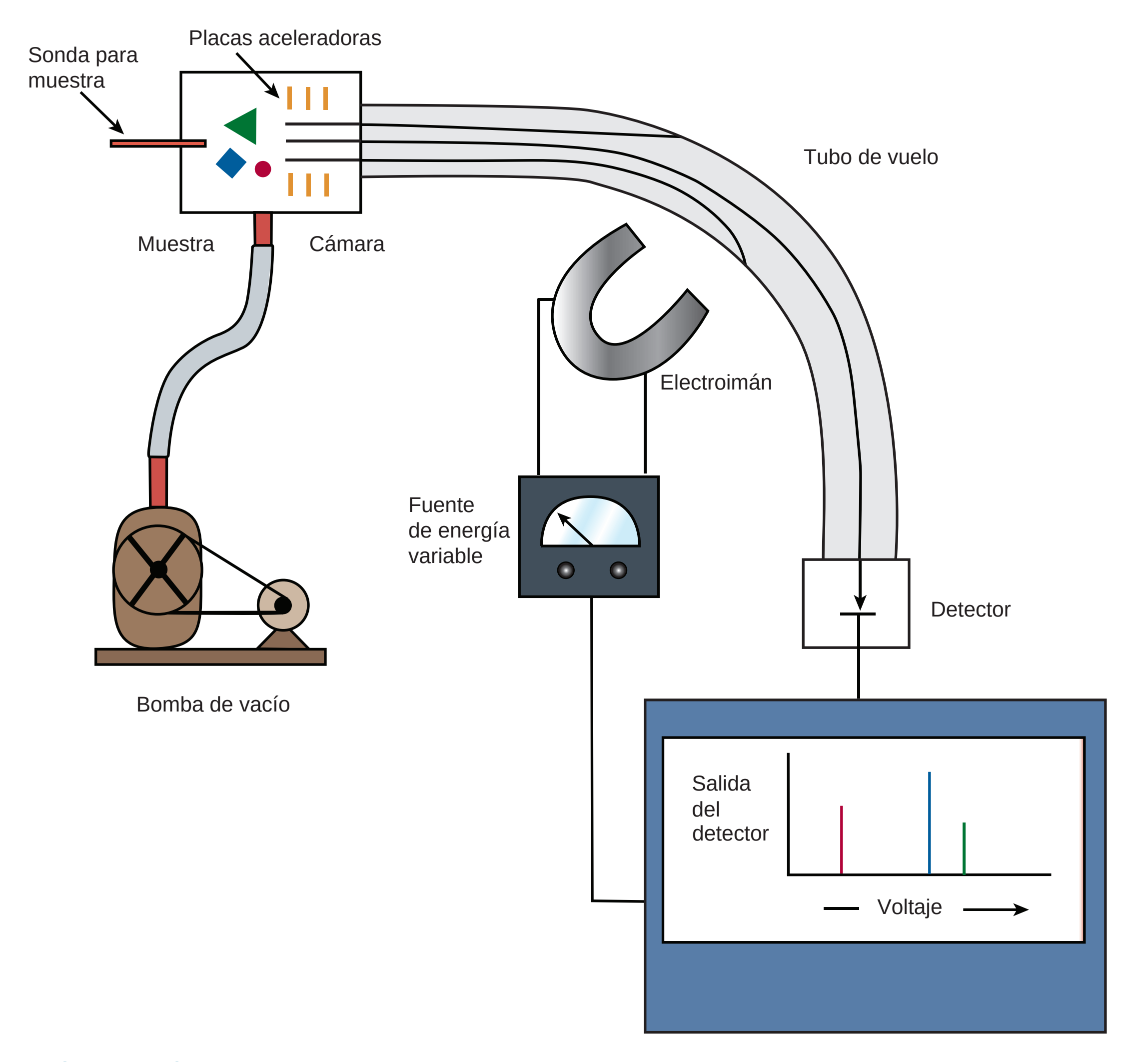


FIGURA 4-8 Componentes básicos de un espectrómetro de masas simple. Una mezcla de moléculas, representada por un círculo de color rojo, un triángulo verde y un rombo de color azul, se vaporiza en un estado ionizado en la cámara de muestra. Estas moléculas después se aceleran por el tubo de vuelo mediante un potencial eléctrico aplicado a la rejilla aceleradora (amarillo). Un electroimán ajustable aplica un campo magnético que desvía el vuelo de los iones individuales hasta que golpean el detector. Mientras mayor es la masa del ion, más alto es el campo magnético requerido para enfocarlo sobre el detector.

masas son **ionización por electroaerosol** y **desorción y ionización mediante láser asistidas con matriz (MALDI).** En la ionización por electroaerosol las moléculas bajo análisis son disueltas en un solvente volátil e introducidas en la cámara de muestra en un chorro diminuto a través de un capilar (g. 4-9). A medida que las gotitas de líquido salen hacia la cámara de muestra, el solvente se dispersa con rapidez y deja la macromolécula suspendida en la fase gaseosa. La sonda cargada sirve para ionizar la muestra. La ionización de electroaerosol a menudo sirve para analizar péptidos y proteínas a medida que pasan por elución desde una HPLC u otra columna de cromatografía. En la MALDI, la muestra se mezcla con una matriz líquida que contiene un colorante que absorbe luz, y una fuente de protones. En la cámara de muestra, la mezcla se excita usando un láser, lo que hace que la matriz circundante se disperse hacia la fase de vapor con tanta rapidez que se evita el calentamiento de péptidos o proteínas embebidos (g. 4-9).

Los péptidos dentro del espectrómetro de masas pueden fragmentarse hacia unidades de menor tamaño mediante colisiones con átomos de helio o argón neutros (disociación inducida por colisión), y determinar las masas de los fragmentos individuales. Dado que los enlaces peptídicos son mucho más lábiles que los enlaces entre un carbono y otro, los fragmentos más abundantes diferirán entre sí por unidades equivalentes a uno o dos aminoácidos. Puesto que —con las excepciones de 1) leucina e isoleucina, y 2) glutamina y lisina— la masa molecular de cada aminoácido es singular, la secuencia del péptido puede reconstruirse a partir de las masas de sus fragmentos.

Espectrometría de masas en tándem

Aquí se emplea el equivalente de dos espectrómetros de masas enlazados en serie, y ahora permite analizar mezclas de péptidos complejas, sin puri cación previa. El primer espectrómetro separa péptidos individuales con base en sus diferencias de masa. Al ajustar la

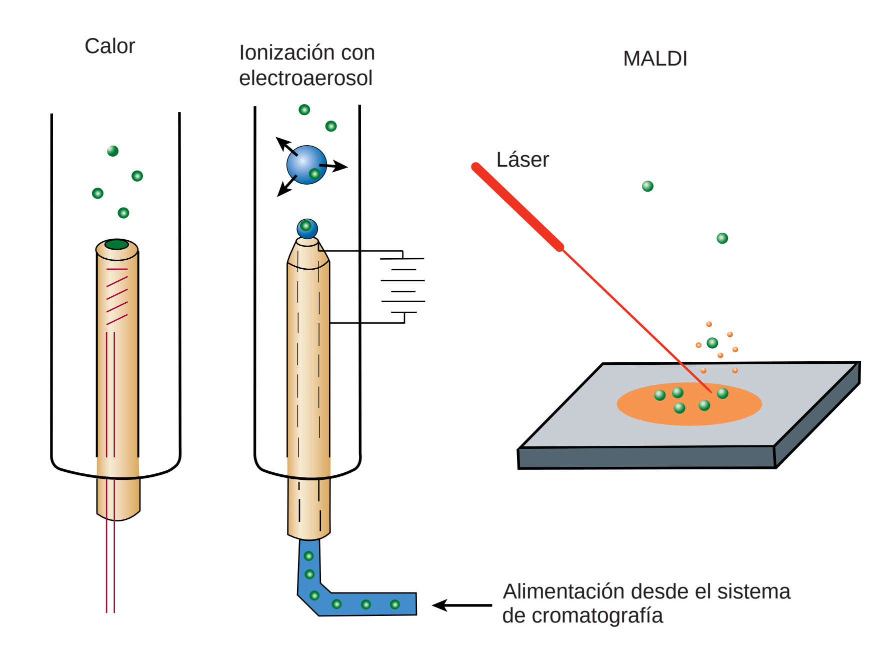


FIGURA 4-9 Tres métodos de uso frecuente para vaporizar moléculas en la cámara de muestra de un espectrómetro de masas.

fuerza del campo del primer imán, un péptido único puede dirigirse hacia el segundo espectrómetro de masas, donde se generan fragmentos y se determinan sus masas.

La espectrometría de masas en tándem permite detectar anormalidades metabólicas

La espectrometría de masas en tándem puede usarse para efectuar pruebas en muestras de sangre provenientes de recién nacidos para detectar la presencia y las concentraciones de aminoácidos, ácidos grasos y otros metabolitos. Las anormalidades de las concentraciones de metabolitos pueden servir como indicadores diagnósticos para diversos trastornos genéticos, como fenilcetonuria, encefalopatía con acidemia etilmalónica y acidemia glutárica tipo 1.

LA GENÓMICA PERMITE IDENTIFICAR PROTEÍNAS A PARTIR DE PEQUEÑAS CANTIDADES DE DATOS DE SECUENCIA

La genómica, la aplicación de secuenciación de oligonucleótido automatizada, y recuperación y análisis de datos computarizados para secuenciar el complemento genético completo de un organismo, ha revolucionado el análisis de estructura primaria. Desde la determinación en 1995 de la secuencia de genoma completa de *Haemophilus influenzae*, se han descifrado los genomas de cientos de organismos. Cuando se conoce la secuencia del genoma, la tarea de determinar la secuencia primaria derivada de DNA de una proteína se simplifica de manera considerable. En esencia, la segunda mitad del método híbrido ya se ha completado. Todo lo que queda es obtener suficiente información para permitir que el marco de lectura abierta (ORF) que codifica para la proteína sea recuperada a partir de una base de datos de genoma accesible en Internet, y sea identificada. En algunos casos, un segmento de secuencia de aminoácidos de sólo cuatro o cinco residuos de longitud puede bastar para identificar el ORF correcto.

Los algoritmos de búsqueda computarizados ayudan a la identificación del gen que codifica para una proteína dada; por ejemplo, en el establecimiento de perfil de masa de péptido se reintroduce un digerido de péptido en el espectrómetro de masas, y se determinan los tamaños de los péptidos. A continuación se usa una computadora para encontrar un ORF cuyo producto proteínico predicho, si se dividiera hacia péptidos mediante el método de división seleccionado, produciría un grupo de péptidos cuyas masas coinciden con las observadas mediante MS.

PROTEÓMICA Y EL PROTEOMA

El objetivo de la proteómica es identificar la totalidad de proteínas elaboradas por una célula en diversas condiciones

Si bien se conoce la secuencia del genoma humano, el cuadro proporcionado por la genómica sola es tanto estático como incompleto. La proteómica se dirige a identificar la totalidad de proteínas elaboradas por una célula en condiciones diversas. A medida que los genes se activan y desactivan, se sintetizan proteínas en tipos de células particulares en momentos específicos del crecimiento o la diferenciación, así como en respuesta a estímulos externos. Las células musculares expresan proteínas no expresadas por células neurales, y el tipo de subunidades presente en el tetrámero de hemoglobina pasa por cambios antes y después del parto. Muchas proteínas pasan por modificaciones postraduccionales durante la maduración hacia formas competentes desde el punto de vista funcional, o como un medio de regular sus propiedades. Por ende, el conocimiento del genoma humano sólo representa el inicio de la tarea de describir organismos vivos en detalle molecular, así como entender la dinámica de procesos como crecimiento, envejecimiento y enfermedad. Dado que el cuerpo humano contiene miles de tipos de células, cada

una de las cuales contiene miles de proteínas, el proteoma —el conjunto de todas las proteínas expresadas por una célula individual en un momento particular— representa un blanco en movimiento de formidables dimensiones.

La electroforesis bidimensional y las micromatrices multigénicas se usan para estudiar la expresión de proteína

Un objetivo de la proteómica es la identi cación de proteínas cuyas magnitudes de expresión se correlacionan con eventos importantes desde el punto de vista médico. Se cree que las proteínas cuya aparición o desaparición se relaciona con un estado siológico especí co o con una enfermedad determinada proporcionarán información acerca de las causas y los mecanismos primarios. La determinación de los proteomas característicos de cada tipo de célula requiere e ciencia máxima en el aislamiento y la identi cación de proteínas individuales. En el método contemporáneo se utiliza automatización robótica para acelerar la preparación de muestras, y geles bidimensionales grandes para resolver proteínas celulares. A continuación se extraen polipéptidos individuales y se analizan mediante secuenciación de Edman o espectroscopia de masas. Si bien sólo es posible resolver alrededor de 1 000 proteínas en un gel único, la electroforesis bidimensional plantea una importante ventaja por cuanto examina las proteínas en sí. En un método alternativo, llamado *Multidimensional Protein Identi cation Technology* (MudPIT), se emplean rondas sucesivas de cromatografía para resolver los péptidos producidos a partir de la digestión de una muestra biológica compleja hacia varias fracciones más simples que se pueden analizar por separado mediante MS. Las micromatrices multigénicas, a veces llamadas microchips de DNA, en las cuales se detecta la expresión de los mRNA que codi can para proteínas, ofrecen un método complementario para la proteómica. Si bien los cambios de la expresión del mRNA que codi ca para una proteína no necesariamente re e-jan cambios comparables de la concentración de la proteína correspondiente, las micromatrices multigénicas son más sensibles que los geles bidimensionales, en particular respecto a proteínas poco abundantes y, así, permiten examinar un rango más amplio de productos de gen.

La bioinformática ayuda a la identificación de funciones de las proteínas

Se desconocen las funciones de una gran proporción de las proteínas codi cadas por el genoma humano. Aún está en sus inicios la creación de micromatrices proteínicas para practicar pruebas de manera directa respecto a las funciones potenciales de proteínas a una escala masiva. Sin embargo, avances recientes en bioinformática permiten a los investigadores comparar secuencias de aminoácidos para descubrir indicios respecto a propiedades potenciales, funciones siológicas y mecanismos de acción de proteínas. Los algoritmos explotan la tendencia de la naturaleza a emplear variaciones de un tema estructural para efectuar funciones similares en varias proteínas [p. ej., el pliegue de unión del nucleótido de Rossmann para unir NAD(P)H, secuencias de blanco nuclear, y manos EF para unir Ca^{2+}]. Estos dominios por lo general se detectan en la estructura primaria mediante conservación de aminoácidos particulares en posiciones clave. De este modo, la información acerca de las propiedades y la función siológica de una proteína recién descubierta puede inferirse al comparar su estructura primaria con la de proteínas conocidas.

RESUMEN

- Los polímeros de aminoácidos largos o polipéptidos constituyen la unidad estructural básica de las proteínas, y la estructura de una proteína proporciona información acerca de cómo desempeña sus funciones.
- Las proteínas pasan por alteraciones postraduccionales durante su lapso de vida, que in uyen sobre su función y determinan su destino.
- El método de Edman ha quedado remplazado en su mayor parte por la espectrometría de masa, recurso sensible y versátil para determinar estructura primaria, para identi car modi caciones postraduccionales y detectar anormalidades metabólicas.
- La clonación del DNA y la biología molecular, junto con la química de proteínas, proporcionan un método híbrido que aumenta mucho la rapidez y la e ciencia para determinar las estructuras primarias de proteínas.
- La genómica —el análisis de toda la secuencia de oligonucleótidos del material genético completo de un organismo— ha proporcionado más mejoras.
- Los algoritmos por computadora facilitan la identi cación de los ORF que codi can para una proteína dada, al usar secuencias parciales y establecimiento de per l de masa peptídica para investigar bases de datos de secuencia.
- Los cientí cos ahora están tratando de determinar la secuencia primaria y el papel funcional de cada proteína expresada en una célula viva, conocida como su proteoma.
- Un objetivo importante es la identi cación de proteínas y sus modi caciones postraduccionales cuya aparición o desaparición se correlaciona con fenómenos siológicos, envejecimiento o enfermedades especí cas.

REFERENCIAS

Arnaud CH: Mass spec tackles proteins. Chem Eng News 2006;84:17.

Austin CP: e impact of the completed human genome sequence on the development of novel therapeutics for human disease. Annu Rev Med 2004;55:1.

Cutler P: Protein arrays: the current state-of-the-art. Proteomics 2003;3:3.

Deutscher MP (editor): *Guide to Protein Puri cation*. Methods Enzymol 1990;182. (Volumen completo.)

Elofsson A, von Heijne G: Membrane protein structure: predictions versus reality. Annu Rev Biochem 2007;76:125.

Geveart K, Vandekerckhove J: Protein identi cation methods in proteomics. Electrophoresis 2000;21:1145.

Gwynne P, Heebner G: Mass spectrometry in drug discovery and development: from physics to pharma. Science 2006;313:1315.

Khan J et al: DNA microarray technology: the anticipated impact on the study of human disease. Biochim Biophys Acta 1999; 1423:M17.

Kislinger T et al: Multidimensional protein identi cation technology (MudPIT): technical overview of a pro ling method optimized for the comprehensive proteomic investigation of normal and diseased heart tissue. J Am Soc Mass Spectrom 2005; 16:1207.

Patnaik SK, Blumenfeld OO: Use of on-line tools and databases for routine sequence analyses. Anal Biochem 2001;289:1.

Rinaldo P, Tortorelli S, Matern D: Recent developments and new applications of tandem mass spectrometry in newborn screening. Curr Opin Pediatrics 2004;16:427.

Rodland KD: Proteomics and cancer diagnosis: the potential of mass spectrometry. Clin Biochem 2004;37:579.

Schena M et al: Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. Science 1995;270:467.

Scopes RK: *Protein Puri cation. Principles and Practice* (3rd ed.). Springer, 1994.

Semsarian C, Seidman CE: Molecular medicine in the 21st century. Intern Med J 2001;31:53.

Sharon M, Robinson CV: e role of mass spectrometry in structure elucidation of dynamic protein complexes. Annu Rev Biochem 2007;76:167.

Temple LK et al: Essays on science and society: de ning disease in the genomics era. Science 2001;293:807.

Woodage T, Broder S: e human genome and comparative genomics: understanding human evolution, biology, and medicine. J Gastroenterol 2003;15:68.

C A P Í T U L O

5

Proteínas: órdenes de estructura superiores

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En la Naturaleza, la forma sigue a la función. Para que un polipéptido recién sintetizado madure hacia una proteína que sea funcional desde el punto de vista biológico, capaz de catalizar una reacción metabólica, impulsar el movimiento celular, o formar las varillas y los cables macromoleculares que proporcionan integridad estructural a pelo, huesos, tendones y dientes, debe plegarse hacia una disposición tridimensional específica, conocida como **conformación**. Además, durante la maduración, las **modificaciones postraduccionales** pueden añadir nuevos grupos químicos o eliminar segmentos peptídicos transitoriamente necesarios. Las deficiencias genéticas o nutricionales que obstaculizan la maduración de proteínas son nocivas para la salud. Algunos ejemplos de las primeras comprenden enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, encefalopatía espongiforme ovina, enfermedad de Alzheimer y encefalopatía espongiforme bovina ("enfermedad de las vacas locas"). El escorbuto representa una deficiencia nutricional que altera la maduración de proteínas.

CONFORMACIÓN EN CONTRASTE CON CONFIGURACIÓN

A menudo, los términos "configuración" y "conformación" son confundidos entre sí. **Configuración** alude a la relación geométrica entre un grupo dado de átomos, por ejemplo, los que distinguen entre L-aminoácidos y D-aminoácidos. La interconversión de alternativas *configuracionales* requiere el rompimiento de enlaces covalentes. Por otra parte, **conformación** se refiere a la relación espacial de cada átomo en una molécula. La interconversión entre conformadores ocurre sin rotura de enlace covalente, con retención de la configuración y, de manera típica, por medio de rotación alrededor de enlaces únicos.

EN UN INICIO LAS PROTEÍNAS FUERON CLASIFICADAS POR SUS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

En su primer enfoque, los científicos abordaron las relaciones entre estructura y función en proteínas mediante separarlas en clases con base en propiedades como solubilidad, forma o la presencia de grupos no proteínicos. Así, por ejemplo, las proteínas que pueden ser extraídas de las células usando soluciones acuosas a pH fisiológico y fuerza iónica son clasificadas como **solubles**. La extracción de **proteínas de membrana integrales** requiere disolución de la membrana con detergentes. Las **proteínas globulares** son moléculas compactas, de forma más o menos esférica, con **proporciones axiales** (la proporción entre sus dimensiones más corta y más larga) de no más de 3. Casi todas las enzimas son proteínas globulares. En contraste, muchas proteínas estructurales adoptan conformaciones muy extendidas, tales **proteínas fibrosas** poseen proporciones axiales de 10 o más.

Las **lipoproteínas** y **glucoproteínas** contienen lípidos y carbohidrato unido de manera covalente, respectivamente. La mioglobina, la hemoglobina, los citocromos y muchas otras **metaloproteínas** contienen iones metálicos estrechamente asociados. Si bien han surgido métodos de clasificación más precisos con base en la similitud, u **homología**, en la secuencia y la estructura tridimensional de aminoácidos, aún se usan muchos términos de clasificación antiguos.

LAS PROTEÍNAS SE CONSTRUYEN USANDO PRINCIPIOS MODULARES

Las proteínas desempeñan complejas funciones físicas y catalíticas al colocar grupos químicos específicos en una disposición tridimensional precisa. El andamio polipeptídico que contiene estos grupos debe adoptar una conformación tanto eficiente desde el punto de vista funcional como fuerte en el aspecto físico. A primera vista, la biosíntesis de polipéptidos comprendidos en decenas de miles de átomos individuales parecería en extremo desafiante. Cuando se considera que un polipéptido típico puede adoptar $\geq 10^{50}$ conformaciones distintas, el plegado hacia la conformación apropiada para su función biológica parecería ser aún más difícil. En la síntesis de los esqueletos polipeptídicos de proteínas se emplea un pequeño grupo de bloques de construcción comunes o módulos, los aminoácidos, unidos por una conexión común, el enlace peptídico (caps. 3 y 4). Una vía modular por pasos simplifica el plegado y el procesamiento de polipéptidos recién sintetizados hacia proteínas maduras.

LOS CUATRO ÓRDENES DE LA ESTRUCTURA DE PROTEÍNAS

La naturaleza modular de la síntesis y el plegado de proteína están incorporados en el concepto de órdenes de estructura de proteína: **estructura primaria**, la secuencia de los aminoácidos en una cadena polipeptídica; **estructura secundaria**, el plegado de segmentos de polipéptido cortos (3 a 30 residuos) y contiguos, hacia unidades

ordenadas de manera geométrica; **estructura terciaria**, el montaje de unidades estructurales secundarias hacia unidades funcionales de mayor tamaño como el polipéptido maduro y los dominios que lo componen y, por último, **estructura cuaternaria**, el número y los tipos de unidades polipeptídicas de proteínas oligoméricas y su disposición espacial.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

Los enlaces peptídicos restringen posibles conformaciones secundarias

La rotación libre sólo es posible alrededor de dos de los tres enlaces covalentes del esqueleto polipeptídico: el carbono α (Cα) el carbono carbonilo (Co), y el Cα al enlace de nitrógeno (g. 3-4). El carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico que une el Co al nitrógeno α requiere que el carbono carbonilo, el oxígeno carbonilo y el nitrógeno α permanezcan coplanares, lo que evita la rotación. El ángulo alrededor del enlace de Cα—N recibe el nombre de ángulo (Φ), mientras que aquel ubicado alrededor del enlace de Co—Cα es el ángulo psi (ψ). Para aminoácidos que no son glicina, casi ninguna combinación de ángulos y psi se permite debido a obstáculo estérico (g. 5-1). Las conformaciones de prolina son aún más restringidas debido a la ausencia de rotación libre del enlace N—Cα.

Las regiones de estructura secundaria ordenada surgen cuando una serie de residuos aminoacilo adoptan ángulos y psi similares. Los segmentos extendidos (p. ej., asas) de polipéptidos llegan a poseer diversos ángulos de ese tipo. Los ángulos que de nen los dos tipos más frecuentes de estructura secundaria, la **hélice α** y la **hoja β**, caen dentro de los cuadrantes inferior y superior izquierdos de un grá co de Ramachandran, respectivamente (g. 5-1).

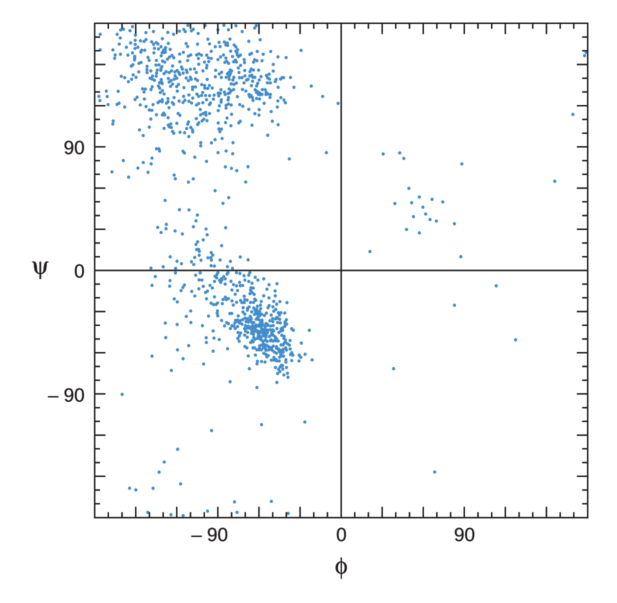


FIGURA 5-1 Grá co de Ramachandran de los ángulos (Φ) y psi (ψ) de la cadena principal para unos 1 000 residuos no glicina en ocho proteínas cuyas estructuras se resolvieron en alta resolución. Los puntos representan combinaciones permisibles, mientras que los espacios indican combinaciones prohibidas de ángulos y psi. (Reproducido, con autorización, de Richardson JS: The anatomy and taxonomy of protein structures. Adv Protein Chem 1981; 34:167. Copyright © 1981. Reimpreso con autorización de Elsevier.)

La hélice α

El esqueleto polipeptídico de una hélice α está torcido por una cantidad igual alrededor de cada carbono α con un ángulo de aproximadamente –57° y un ángulo psi de alrededor de –47°. Un giro completo de la hélice contiene un promedio de 3.6 residuos aminoacilo y la distancia que sube por cada giro (su *pendiente*) es de 0.54 nm (g. 5-2). Los grupos R de cada residuo aminoacilo en una hélice α miran hacia afuera (g. 5-3). Las proteínas sólo contienen l-aminoácidos, para los cuales una hélice α diestra es con mucho la más estable, y en las proteínas sólo hay hélices α diestras. En los diagramas esquemáticos de proteínas se representa a las hélices α como espirales o cilindros.

La estabilidad de una hélice α proviene sobre todo de enlaces (puentes) de hidrógeno formados entre el oxígeno del enlace peptídico del grupo carbonilo y el átomo de hidrógeno del grupo amino (que contiene nitrógeno) del enlace peptídico del cuarto residuo en dirección descendente por la cadena de polipéptido (g. 5-4). La capacidad para formar el número máximo de enlaces de hidrógeno, complementada por interacciones de van der Waals en el centro de esta estructura estrechamente apretada, brinda la fuerza impulsora termodinámica para la formación de una hélice α. Dado que el nitrógeno del enlace peptídico de prolina carece de un átomo de hidrógeno para contribuir a un enlace de hidrógeno, la prolina sólo puede adaptarse de manera estable dentro del primer giro de una hélice α. Cuando está presente en otro sitio, la prolina altera la conformación

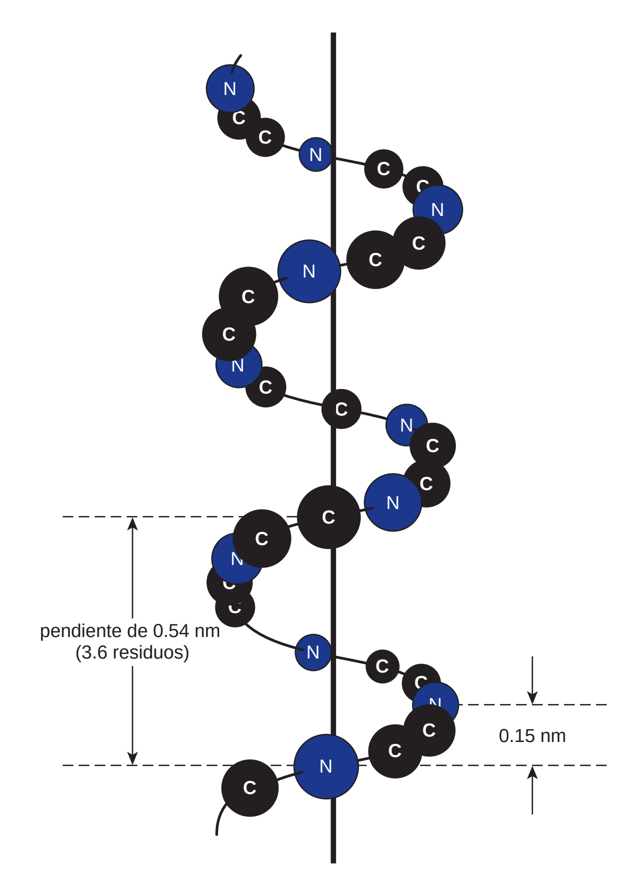


FIGURA 5-2 Orientación de los átomos de la cadena principal de un péptido alrededor del eje de una hélice α.

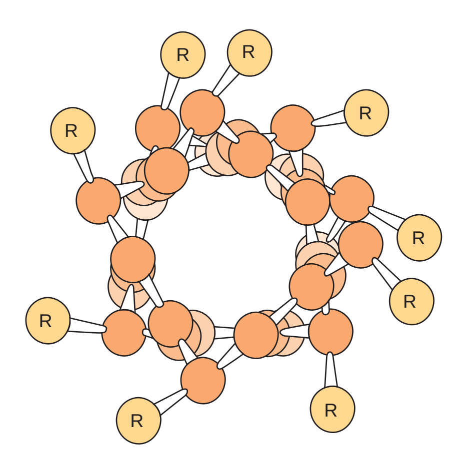


FIGURA 5-3 Eje de una hélice α visto desde arriba. Las cadenas laterales (R) están en el exterior de la hélice. Los radios de van der Waals de los átomos son de mayor tamaño que el que se muestra aquí; por ende, casi no hay espacio libre dentro de la hélice. (Ligeramente modi cado y reproducido, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry,* 3rd ed. Freeman, 1995. Copyright © 1995 W.H. Freeman and Company.)

de la hélice y produce una exión. Debido a su pequeñez, la glicina a menudo también induce exiones en hélices α.

En muchas hélices α predominan grupos R hidrofóbicos en un lado del eje de la hélice e hidrofílicos en el otro. Estas **hélices an páticas** están bien adaptadas a la formación de interfases entre regiones polares y no polares como el interior hidrofóbico de una proteína y su ambiente acuoso. Las agrupaciones de hélices an-páticas pueden crear un canal, o poro, que permite que moléculas polares especí cas pasen a través de membranas celulares hidrofóbicas.

La hoja β

Es la segunda (de ahí su denominación "β") estructura secundaria regular reconocible en las proteínas. Los residuos aminoácidos de una hoja β, cuando se observan de canto, forman un modelo en zigzag o plisado en el cual los grupos R de residuos adyacentes apuntan en direcciones opuestas. A diferencia del esqueleto compacto de la hélice α, el esqueleto peptídico de la hoja β está muy extendido; sin embargo, al igual que la hélice α, gran parte de la estabilidad de las hojas β se deriva de enlaces de hidrógeno entre los oxígenos carbonilo y los hidrógenos amida de enlaces peptídicos. En contraste con la hélice α, estos enlaces se forman con segmentos adyacentes de hoja β (g. 5-5).

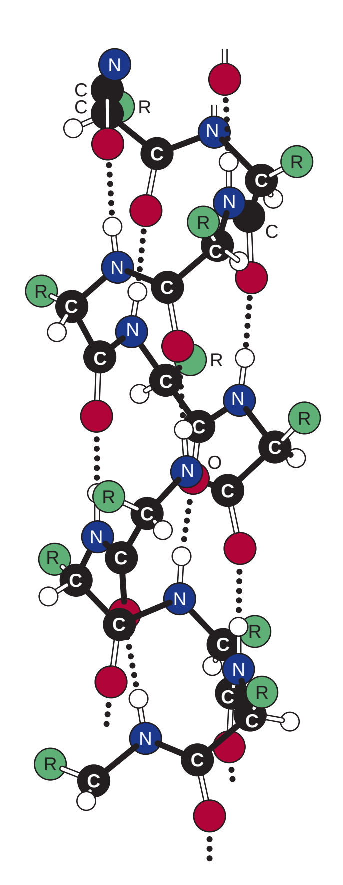


FIGURA 5-4 Los enlaces de hidrógeno (líneas punteadas) formados entre átomos de H y O estabilizan un polipéptido en una conformación helicoidal α. (Reimpreso, con autorización, de Haggis GH et al.: *Introduction to Molecular Biology.* Wiley, 1964, con autorización de Pearson Education Limited.)

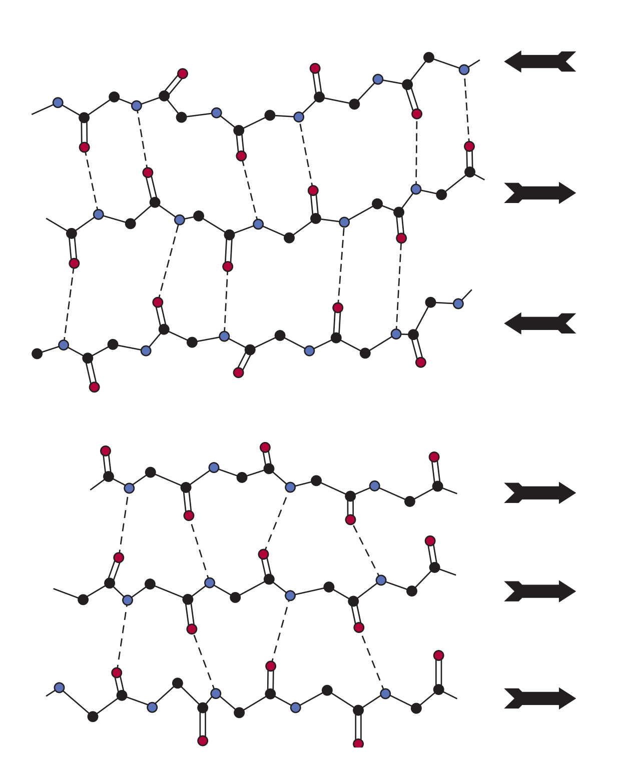


FIGURA 5-5 Espaciamiento y ángulos de enlace de los enlaces de hidrógeno de hojas β plegadas antiparalelas y paralelas. Las echas indican la dirección de cada hebra. Los enlaces de hidrógeno están indicados por líneas punteadas; los átomos de nitrógeno α (donadores de hidrógeno) y los átomos de oxígeno (aceptores de hidrógeno) participantes se muestran en color azul y rojo, respectivamente. Los átomos de carbono del esqueleto se muestran en color negro. Para favorecer la claridad en la presentación, se omitieron los grupos R y los átomos de hidrógeno. **Arriba:** hoja β antiparalela; pares de enlaces de hidrógeno alternan entre estar muy juntos y muy separados, y están orientados en dirección aproximadamente perpendicular al esqueleto polipeptídico. **Abajo:** hoja β paralela, los enlaces de hidrógeno están espaciados de manera uniforme, pero se inclinan en direcciones alternas.

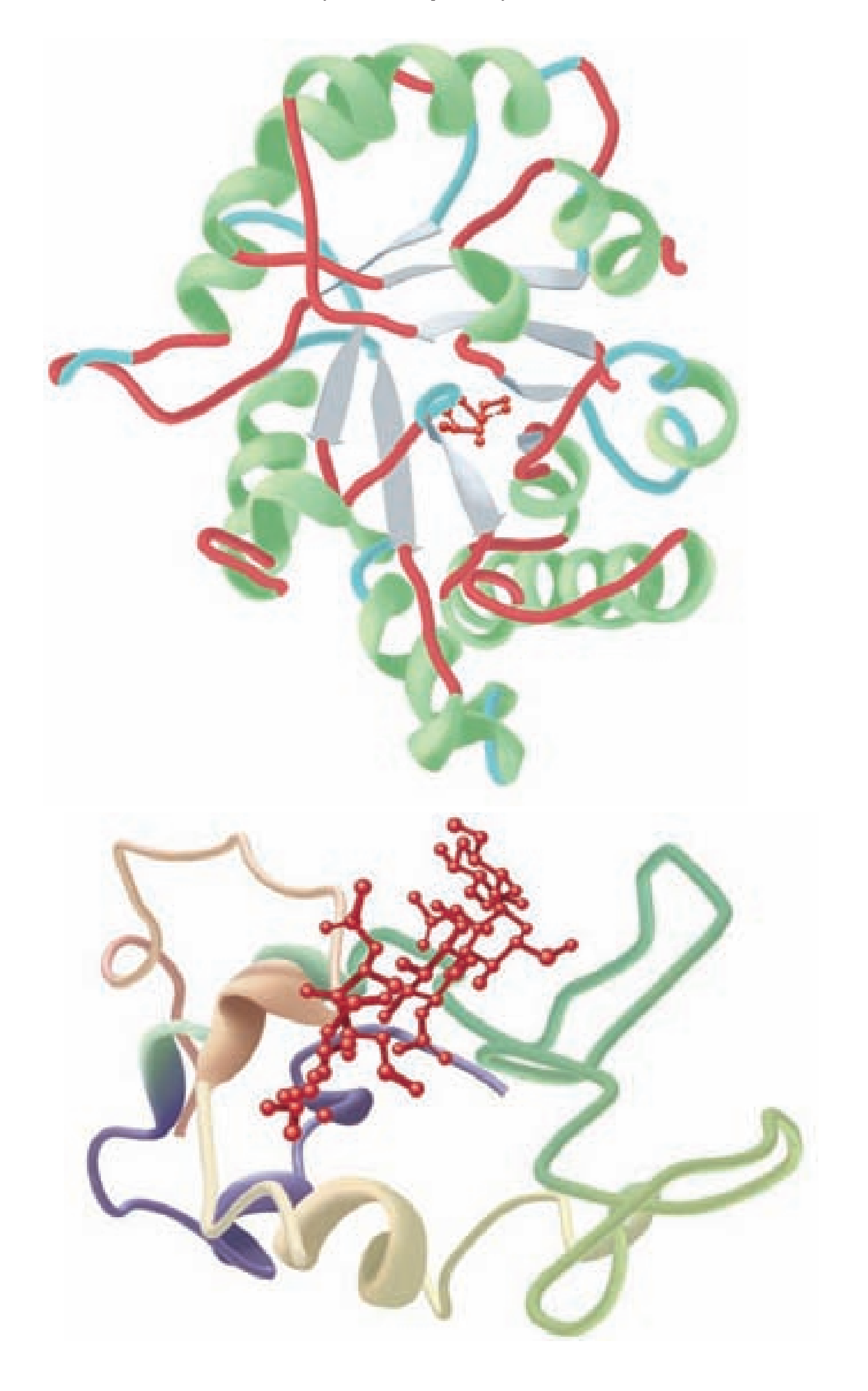


FIGURA 5-6 Ejemplos de estructura terciaria de proteínas. **Arriba:** la enzima triosa fosfato isomerasa formando complejos con el análogo de sustrato 2-fosfoglicerato (rojo). Note la disposición armoniosa y simétrica de las hojas β (azul claro) y hélices α (verde) que alternan; las hojas β forman un centro en barril β conjunto rodeado por las hélices. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1o5x.) **Abajo:** complejo de lisozima con el análogo de sustrato penta-N-acetil quitopentaosa (rojo). El color de la cadena de polipéptidos está graduado a lo largo del espectro visible desde púrpura (N terminal) hacia marrón claro (C terminal). Note de qué modo la forma cóncava del dominio forma una bolsa de unión para el pentasacárido, la falta de hoja β, y la alta proporción de asas y exiones. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1sfb.)

Las hojas β que interactúan pueden disponerse para formar una hoja β **paralela**, en la cual los segmentos adyacentes de la cadena polipeptídica proceden en la misma dirección amino hacia carbonilo, o una hoja **antiparalela**, en la cual proceden en direcciones opuestas (g. 5-5). Una u otra con guración permite el número máximo de enlaces de hidrógeno entre segmentos, o hebras de la hoja. Casi ninguna hoja β es perfectamente plana, sino que tiende a mostrar una torsión hacia la derecha. Las agrupaciones de hebras torcidas de hoja β forman el centro de muchas proteínas globulares (g. 5-6). En diagramas esquemáticos se representa a las hojas β como echas que apuntan en la dirección amino hacia carboxilo terminal.

Asas y flexiones

A grandes rasgos, la mitad de los residuos en una proteína globular "típica" reside en hélices α y hojas β, y la otra mitad en asas, giros, exiones y otras características conformacionales extendidas. "Giros y exiones" alude a segmentos cortos de aminoácidos que unen dos unidades de estructura secundaria, como dos hebras adyacentes de una hoja β antiparalela. Un giro β comprende cuatro residuos aminoacilo, en los cuales el primer residuo está enlazado con hidrógeno al cuarto, lo que da por resultado una vuelta de 180° cerrada (g. 5-7). La prolina y la glicina a menudo están presentes en giros β.

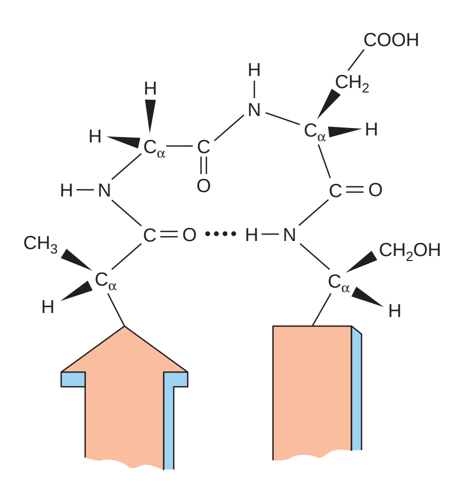


FIGURA 5-7 Un giro β que enlaza dos fragmentos de la hoja β antiparalela. La línea punteada indica el enlace de hidrógeno entre el primero y cuarto aminoácidos del segmento de cuatro residuos Ala-Gli-Asp-Ser.

Las asas son regiones que contienen residuos más allá del número mínimo necesario para conectar regiones adyacentes de estructura secundaria; sin embargo, las asas, que tienen conformación irregular, desempeñan funciones biológicas clave. Para muchas enzimas, las asas que forman puentes entre dominios encargados de la unión de sustratos a menudo contienen residuos aminoacilo que participan en catálisis. Los **motivos de hélice-asa-hélice** proporcionan la porción de unión a oligonucleótido de proteínas de unión a DNA como represores y factores de transcripción. Los motivos estructurales, como el motivo de hélice-asa-hélice que son intermedios entre estructuras secundarias y terciarias, a menudo se denominan **estructuras supersecundarias**. Dado que muchas asas y exiones residen sobre la super cie de proteínas y, así, quedan expuestas a solvente, constituyen sitios fácilmente accesibles, o **epítopos**, para reconocimiento y unión de anticuerpos.

Si bien las asas carecen de regularidad estructural mani esta, existen en una conformación especí ca estabilizada por medio de formación de enlaces de hidrógeno, puentes salinos, e interacciones hidrofóbicas con otras porciones de la proteína; sin embargo, no todas las porciones de proteínas están necesariamente ordenadas. Las proteínas pueden contener regiones "desordenadas", a menudo en el extremo amino o carboxilo terminal, caracterizadas por una alta exibilidad conformacional. En muchos casos, estas regiones desordenadas adoptan una conformación ordenada en el momento de unión de un ligando. Tal exibilidad estructural permite que dichas regiones actúen como conmutadores controlados por ligando que afectan la estructura y la función de proteínas.

Estructuras terciaria y cuaternaria

El término "estructura terciaria" se re ere a toda la conformación tridimensional de un polipéptido. Indica, en espacio tridimensional, de qué modo las características estructurales secundarias —hélices, hojas, exiones, giros y asas— se montan para formar dominios, y cómo estos últimos se relacionan desde el punto de vista espacial entre sí. Un **dominio** es una sección de estructura proteínica su ciente para desempeñar una tarea química o física particular, como la unión de un sustrato u otro ligando. Casi todos los dominios son de naturaleza modular, contiguos tanto en secuencia primaria como en espacio tridimensional (g. 5-8). Las proteínas simples, en particular las que interactúan con un sustrato único, como lisozima o triosa fosfato isomerasa (g. 5-6), y la proteína de almacenamiento de oxígeno mioglobina (cap. 6), a menudo constan de un dominio único. En contraste, la lactato deshidrogenasa comprende dos dominios, un dominio de unión a NAD^+ N terminal, y un dominio de unión a C terminal para el segundo sustrato, piruvato (g. 5-8). La lactato deshidrogenasa es una familia de oxidorreductasas que comparten un dominio de unión a $NAD(P)^+$ N terminal, conocido como el **pliegue de Rossmann**. Al fusionar el módulo del pliegue de Rossmann a diversos dominios C terminal, ha evolucionado una gran familia de oxidorreductasas que utilizan $NAD(P)^+$/NAD(P)H para la oxidación y reducción de una amplia gama de metabolitos. Los ejemplos son alcohol deshidrogenasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa, quinona oxidorreductasa, 6-fosfogluconato deshidrogenasa, D-glicerato deshidrogenasa, formato deshidrogenasa y 3α, 20β-hidroxiesteroide deshidrogenasa.

No todos los dominios unen sustratos. Los dominios de membrana hidrofóbicos jan proteínas a membranas o les permiten abarcar membranas. Las secuencias de localización dirigen proteínas hacia ubicaciones subcelulares o extracelulares especí cas, como el núcleo, las mitocondrias, vesículas secretoras, etc. Los dominios reguladores desencadenan cambios de la función de proteína en respuesta a la unión de efectores alostéricos o modi caciones covalentes (cap. 9). Combinar módulos de dominio proporciona una ruta fácil para generar proteínas de gran complejidad estructural y funcional (g. 5-9).

Las proteínas que contienen múltiples dominios también pueden montarse por medio de la asociación de múltiples polipéptidos o protómeros. La estructura cuaternaria de ne la composición polipeptídica de una proteína y, para una proteína oligomérica, las relaciones espaciales entre sus protómeros o subunidades. Las proteínas **monoméricas** constan de una cadena polipeptídica única; las proteínas **diméricas** contienen dos cadenas polipeptídicas. Los **homodímeros** contienen dos copias de la misma cadena polipeptídica, mientras que en un **heterodímero** los polipéptidos di eren. Se usan letras griegas (α, β, γ y demás) para distinguir diferentes subunidades de una proteína heterooligomérica, en tanto que los números en subíndice indican el número de cada tipo de subunidad. Por ejemplo, α_4 designa una proteína homotetramérica, y $\alpha_2\beta_2\gamma$ una proteína con cinco subunidades de tres tipos diferentes.

Dado que incluso las proteínas pequeñas contienen muchos miles de átomos, las representaciones de la estructura de proteínas que indican la posición de cada átomo por lo general son demasiado complejas como para interpretarlas con facilidad. De este modo, se usan diagramas esquemáticos simpli cados para representar características clave de las estructuras terciaria y cuaternaria de una proteína. Los diagramas de cinta (gs. 5-6 y 5-8) trazan la conformación del esqueleto polipeptídico; cilindros y echas indican regiones de una hélice α y una hoja β, respectivamente. En una representación aún más simple, segmentos de línea que enlazan los carbonos α indican la trayectoria del esqueleto polipeptídico. Estos diagramas esquemáticos a menudo incluyen las cadenas laterales de aminoácidos seleccionados que recalcan relaciones especí cas entre estructura y función.

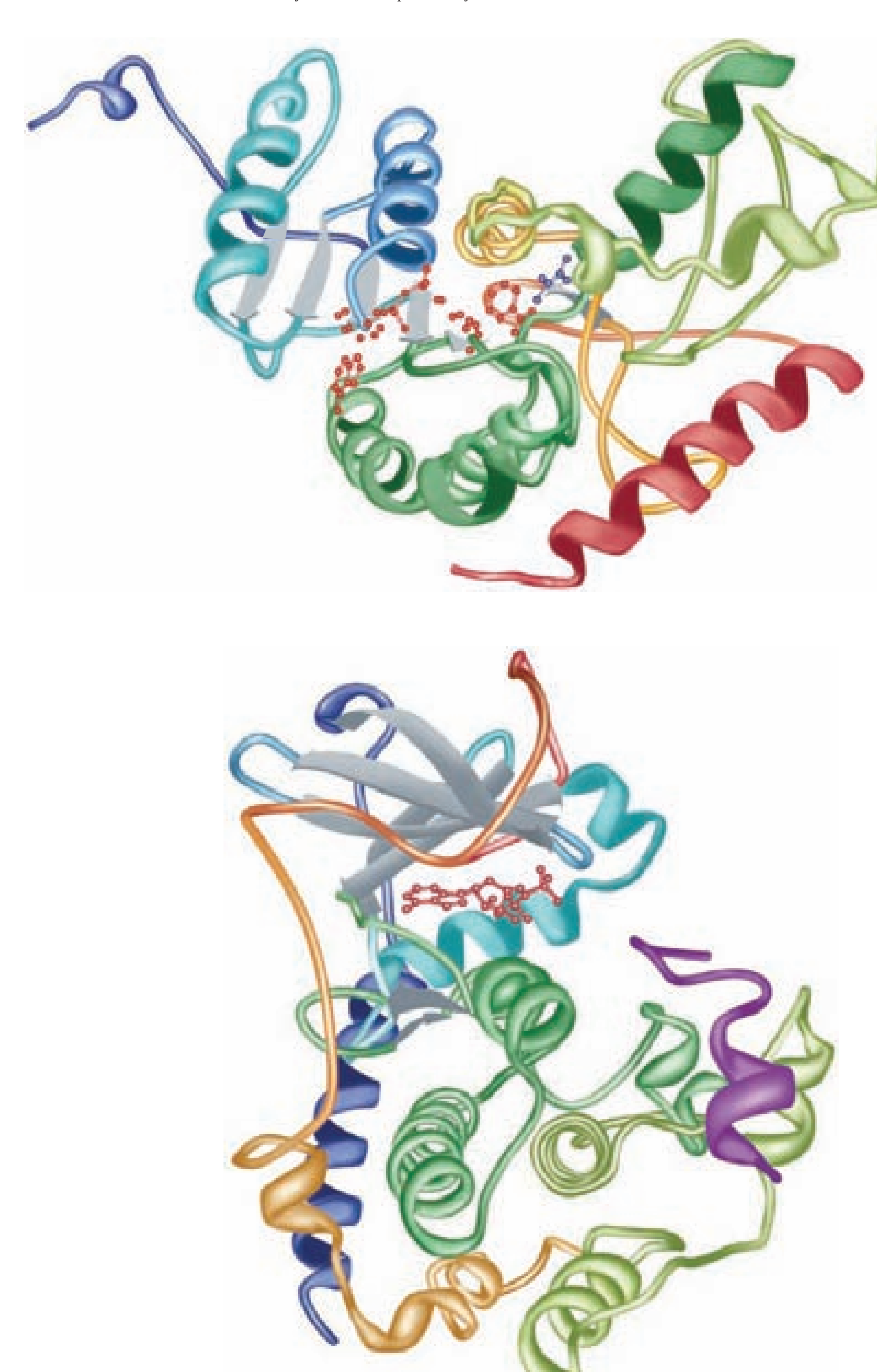


FIGURA 5-8 Polipéptidos que contienen dos dominios. **Arriba:** estructura tridimensional de la lactato deshidrogenasa con los sustratos NADH (rojo) y piruvato (azul) unidos. No se muestran todos los enlaces en el NADH. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo, que abarca la porción izquierda de la enzima, que se encarga de unir NADH. De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo que une piruvato. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 3ldh.) **Abajo:** estructura tridimensional de la subunidad catalítica de la proteína cinasa dependiente de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (cap. 42) con los análogos de sustrato ADP (rojo) y péptido (púrpura) unidos. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta anaranjado (C terminal). Las proteínas cinasas trans eren el grupo fosfato y de ATP a sustratos proteína y péptido (cap. 9). Note cómo la porción N terminal del polipéptido forma un dominio contiguo rico en hojas β que une al difosfato de adenosina (ADP). De modo similar, la porción C terminal forma un dominio contiguo rico en hélice α, que se encarga de unir el sustrato péptido. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1jbp.)

MÚLTIPLES FACTORES ESTABILIZAN LAS ESTRUCTURAS TERCIARIA Y CUATERNARIA

Los órdenes superiores de la estructura de proteínas se estabilizan de manera primordial —y a menudo de forma exclusiva— por medio de interacciones no covalentes. Entre éstas, las principales son interacciones hidrofóbicas que impulsan casi todas las cadenas laterales hidrofóbicas de aminoácidos hacia el interior de la proteína y las protegen contra el agua. Otros contribuidores importantes comprenden enlaces de hidrógeno y puentes salinos entre los carboxilatos de ácidos aspártico y glutámico, y las cadenas laterales con carga opuesta de residuos lisilo, arginilo e histidilo protonados. Si bien son individualmente débiles en comparación con un enlace covalente típico de 80 a 120 kcal/mol, en conjunto estas muchas interacciones con eren un alto grado de estabilidad a la conformación funcional desde el punto de vista biológico de una proteína, del mismo modo que en un cierre de velcro se aprovecha la fuerza acumulativa de múltiples asas y ganchos de plástico.

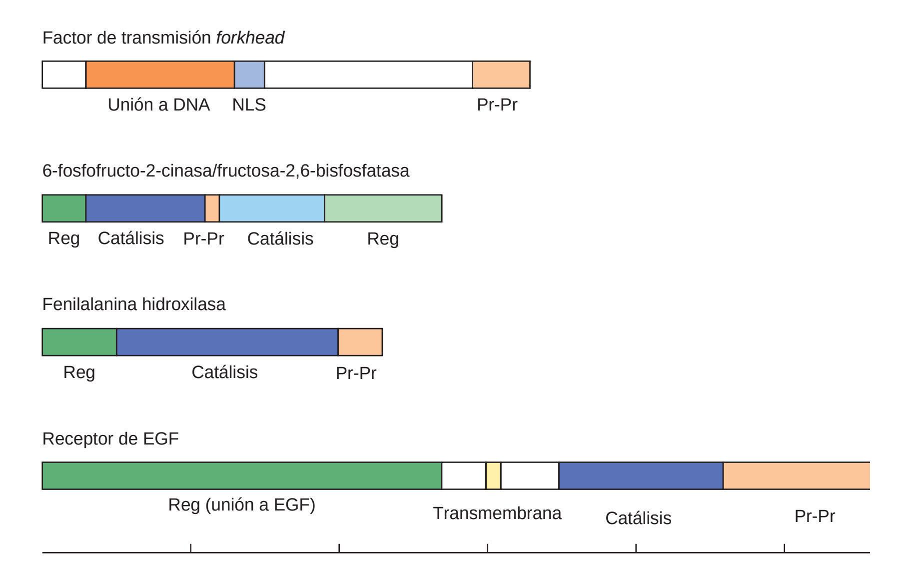


FIGURA 5-9 Algunas proteínas de múltiple dominio. Los rectángulos representan las secuencias de polipéptidos de un factor de transcripción *forkhead*; 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa, enzima bifuncional cuyas actividades están controladas de manera recíproca por efectores alostéricos y modi□cación covalente (cap. 20); fenilalanina hidroxilasa (caps. 27 y 29), cuya actividad es estimulada por fosforilación de su dominio regulador, y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) (cap. 41), proteína transmembrana cuyo dominio de proteína cinasa intracelular es regulado por medio de la unión de la hormona peptídica EGF a su dominio extracelular. Los dominios reguladores tienen color verde, los dominios catalíticos de azul oscuro y azul claro, los dominios de interacción entre una proteína y otra de color anaranjado claro, los dominios de unión a DNA de anaranjado oscuro, las secuencias de localización nuclear (NLS) de azul medio, y los dominios transmembrana de amarillo. Las actividades de cinasa y bisfosfatasa de la 6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa-2,6-bisfosfatasa son catalizadas por los dominios catalíticos cercanos N y C terminal, respectivamente.

Algunas proteínas contienen enlaces disulfuro covalentes (S—S) que enlazan los grupos sul idrilo de residuos cisteinilo. La formación de enlaces disulfuro comprende oxidación de los grupos cisteinilo sul idrilo y requiere oxígeno. Los enlaces disulfuro intrapolipeptídicos aumentan más la estabilidad de la conformación plegada de un péptido, mientras que los enlaces disulfuro interpolipeptídicos estabilizan la estructura cuaternaria de ciertas proteínas oligoméricas.

LA ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL SE DETERMINA MEDIANTE CRISTALOGRAFÍA CON RAYOS X O POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA CON NMR

Cristalografía con rayos X

Después de que en 1960 John Kendrew solucionó la estructura tridimensional de la mioglobina, la cristalografía con rayos X reveló las estructuras de miles de proteínas y muchos oligonucleótidos y virus. En la solución de esta estructura por medio de cristalografía con rayos X, una proteína se precipita primero en condiciones que forman cristales grandes y bien ordenados. Para establecer condiciones apropiadas, en estudios de cristalización se usan algunos microlitros de solución de proteína, y una matriz de variables (temperatura, pH, presencia de sales o solutos orgánicos como polietilén glicol) a n de establecer condiciones óptimas para la formación de cristales. El primer paso es radiar cristales montados en capilares de cuarzo con rayos X monocromáticos de longitud de onda aproximada de 0.15 nm para con rmar que son proteína, no sal. A continuación los cristales de proteína se pueden congelar en nitrógeno líquido para recolección subsiguiente de un grupo de datos de alta resolución. Los modelos formados mediante los rayos X que son difractados por los átomos en su trayectoria se registran sobre una placa fotográ ca o su equivalente en computadoras como un modelo circular de puntos de intensidad variable. A continuación se analizan los datos inherentes en estas manchas usando un método matemático llamado una *síntesis de Fourier*, que suma las funciones de onda. Las amplitudes de onda se relacionan con la intensidad de la mancha, pero dado que las ondas no están secuenciadas, a continuación es necesario determinar la relación entre sus fases. En el método tradicional para la solución del "problema de fase" se emplea **desplazamiento isomorfo**. Antes de la radiación, un átomo, con una " rma" de rayos X distintiva, se introduce en un cristal en posiciones conocidas en la estructura primaria de la proteína. En el desplazamiento isomorfo de átomo pesado por lo general se usa mercurio o uranio, que se une a residuos cisteína. En un método alternativo se utiliza la expresión de proteínas recombinantes codi cadas por plásmido, en las cuales el selenio remplaza al azufre de la metionina. En la expresión se usa un huésped bacteriano auxotró co para la biosíntesis de metionina y un medio de nido en el cual la selenometionina remplaza a la metionina. De manera alternativa, si la estructura desconocida es

similar a una que ya se ha resuelto, el **remplazo molecular** en un modelo existente proporciona una manera atractiva de secuenciar los datos sin el uso de átomos pesados. Por último, los resultados de la secuencia y las sumas de Fourier proporcionan un per l de densidad de electrones o mapa tridimensional de cómo los átomos se conectan o relacionan entre sí.

Cristalografía con rayos X de Laue

La capacidad de algunas enzimas cristalizadas para catalizar reacciones químicas sugiere de manera rme que las estructuras determinadas mediante cristalografía son, de hecho, representativas de las estructuras presentes en solución libre. Sin embargo, la cristalografía clásica proporciona un cuadro en esencia estático de una proteína que quizá sufra importantes cambios estructurales, como los que acompañan a la catálisis enzimática. En el método de Laue se utilizan difracción de rayos X policromáticos y muchos cristales. Se evita el proceso (que consume mucho tiempo) de rotar el cristal en el haz de rayos X, lo que permite el uso de tiempos de exposición en extremo breves. En la detección de los movimientos de residuos o dominios de una enzima durante catálisis se usan cristales que contienen un análogo de sustrato inactivo o "enjaulado". Un destello intenso de luz visible divide el precursor enjaulado para que libere sustrato libre e inicie catálisis de una manera controlada con precisión. Al usar este método, es factible reunir datos durante periodos tan breves como de algunos nanosegundos.

Espectroscopia con resonancia magnética nuclear (NMR)

Es un importante complemento para la cristalografía con rayos X y mide la absorbancia de energía electromagnética de radiofrecuencia por ciertos núcleos atómicos. Los isótopos "activos en NMR" de elementos importantes desde el punto de vista biológico comprenden ^{1}H, ^{13}C, ^{15}N y ^{31}P. La frecuencia, o desviación química, a la cual un núcleo particular absorbe energía está en función tanto del grupo funcional dentro del cual reside, como de la proximidad de otros núcleos activos en la NMR. Alguna vez limitados a metabolitos y macromoléculas relativamente pequeñas, $\leq$ 30 kDa, en la actualidad es posible analizar proteínas y complejos proteínicos de $>$ 100 kDa mediante NMR. La espectroscopia con NMR bidimensional permite construir una representación tridimensional de una proteína al determinar la proximidad de estos núcleos a otro. En la espectroscopia con NMR se analizan proteínas en una solución acuosa, lo cual no sólo obvia la necesidad de formar cristales (una ventaja particular cuando se trata con proteínas de membrana difíciles de cristalizar), sino que también hace posible la observación en tiempo real de los cambios de conformación que acompañan a la unión a ligando o catálisis. También ofrece la posibilidad de que algún día logre observarse la estructura y la dinámica de proteínas (y metabolitos) dentro de células vivas.

Modelado molecular

Un adjunto cada vez más útil para la determinación empírica de la estructura tridimensional de proteínas es el uso de tecnología de computadora para modelado molecular. Cuando se conoce la estructura tridimensional, es factible utilizar programas de **dinámica molecular** para simular la dinámica conformacional de una proteína, y la manera en la cual factores como temperatura, pH, fuerza iónica o sustituciones de aminoácidos in uyen sobre estos movimientos. Los programas de **acoplamiento molecular** simulan las interacciones que tienen lugar cuando una proteína se encuentra con un sustrato, inhibidor u otro ligando. La investigación virtual para moléculas que tienen probabilidades de interactuar con sitios clave sobre una proteína de interés biomédico se usa de manera extensa con el n de facilitar el descubrimiento de nuevos fármacos.

El modelado molecular también se emplea para inferir la estructura de proteínas para las cuales aún no se dispone de estructuras cristalográ cas con rayos X o NMR. Los algoritmos de estructuras secundarias sopesan la propensión de residuos especí cos a quedar incorporados hacia hélices α u hojas β en proteínas ya estudiadas para predecir la estructura secundaria de otros polipéptidos. En el **modelado de homología**, la estructura tridimensional conocida de una proteína se usa como una plantilla sobre la cual erigir un modelo de la estructura probable de una proteína relacionada. Los cientí cos están trabajando para idear programas de computadora que predecirán de manera able la conformación tridimensional de una proteína de manera directa a partir de su secuencia primaria, lo que permitirá determinar las estructuras de muchas de las proteínas desconocidas para las cuales en la actualidad se carece de plantillas.

PLEGADO DE PROTEÍNA

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional que pueden plegarse hacia su conformación competente desde el punto de vista funcional en un marco de tiempo de milisegundos, y a menudo pueden volver a plegarse si su conformación queda alterada o desnaturalizada. ¿De qué modo se logra este notorio proceso de plegado? El plegado hacia el estado natural no comprende una búsqueda desordenada de todas las estructuras posibles. Las proteínas desnaturalizadas no son sólo espirales al azar, los contactos naturales son favorecidos y regiones de la estructura natural prevalecen incluso en el estado desnaturalizado. A continuación se comentan los factores que facilitan el plegado y la recuperación del mismo, así como los conceptos actuales y mecanismos propuestos basados en más de 40 años de experimentación en su mayor parte *in vitro*.

La conformación natural de una proteína es favorecida desde el punto de vista termodinámico

El número de combinaciones distintas de ángulos y psi que especi can conformaciones potenciales de incluso un polipéptido hasta cierto punto pequeño —15 kDa— es asombrosamente vasto. Las proteínas se guían a través de este vasto laberinto de posibilidades mediante la termodinámica. Dado que la conformación relevante desde el punto de vista biológico —o natural— de una proteína por lo general es la que resulta más favorecida desde el punto de vista energético, el conocimiento de la conformación natural está especi cado en la secuencia primaria. No obstante, si se esperara que un polipéptido encontrara su conformación natural mediante exploración al azar de todas las conformaciones posibles, el proceso reque-

riría miles de millones de años para completarse; queda claro que el plegado de proteína en células tiene lugar de una manera más ordenada y guiada.

El plegado es modular

El plegado de proteínas por lo general ocurre mediante un proceso por pasos. En la primera etapa, a medida que el polipéptido recién sintetizado surge a partir del ribosoma, segmentos cortos se pliegan hacia unidades estructurales secundarias que proporcionan regiones locales de estructura organizada; el plegado ahora se reduce a la selección de una disposición apropiada de este número relativamente pequeño de elementos estructurales secundarios. En la segunda etapa, las regiones hidrofóbicas se segregan hacia el interior de la proteína, lejos del solvente, lo que forma un "glóbulo fundido", un polipéptido parcialmente plegado en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan hasta que se logra la conformación madura de la proteína. Este proceso es ordenado, mas no rígido; hay considerable flexibilidad en las formas y el orden en el cual los elementos de estructura secundaria pueden reordenarse. En general, cada elemento de estructura secundaria o supersecundaria facilita el plegado apropiado al dirigir el proceso de plegado hacia la conformación natural y lo aleja de las alternativas no productivas. En el caso de proteínas oligoméricas, los protómeros individuales tienden a plegarse antes de que se asocien con otras subunidades.

Proteínas auxiliares ayudan al plegado

En condiciones de laboratorio apropiadas, muchas proteínas volverán a plegarse de manera espontánea después de ser **desnaturalizadas** (esto es, desdobladas) mediante tratamiento con ácido o base, agentes caotrópicos o detergentes. Sin embargo, la restitución del plegado en estas circunstancias es lenta —de minutos a horas. Más aún, algunas proteínas no vuelven a plegarse de manera espontánea *in vitro* y a menudo forman **agregados** insolubles, complejos desordenados de polipéptidos desdoblados o parcialmente plegados que se sostienen juntos mediante interacciones hidrofóbicas. Los agregados representan callejones sin salida no productivos en el proceso de plegado. Las células emplean proteínas auxiliares para acelerar el proceso de plegado y guiarlo hacia una conclusión productiva.

Chaperones

Las proteínas **chaperón** participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamíferos. La familia de chaperones hsp70 (proteína de choque por calor de 70 kDa) se une a secuencias cortas de aminoácidos hidrofóbicos en polipéptidos recién sintetizados, lo que los protege contra solvente. Los chaperones evitan la agregación; de este modo, proporcionan una oportunidad para la formación de elementos estructurales secundarios apropiados y su coalescencia subsiguiente hacia un glóbulo fundido. La familia de chaperones hsp60, a veces llamada **chaperoninas**, difiere en secuencia y estructura de hsp70 y sus homólogos; así, hsp60 actúa más tarde en el proceso de plegado, a menudo junto con un chaperón hsp70. La cavidad central del chaperón hsp60 en forma de rosquilla, proporciona un ambiente protegido en el cual un polipéptido puede plegarse hasta que todas las regiones hidrofóbicas están sepultadas en su interior, lo que elimina la agregación.

FIGURA 5-10 La isomerización del enlace peptídico *N*-α_1 prolilo desde una configuración *cis* hacia una *trans* respecto del esqueleto del polipéptido.

Proteína disulfuro isomerasa

Los enlaces disulfuro entre polipéptidos y dentro de los mismos estabilizan las estructuras terciaria y cuaternaria; sin embargo, la formación de enlace disulfuro es inespecífica. En condiciones oxidantes, una cisteína dada puede formar un enlace disulfuro con el —SH de cualquier residuo cisteinilo accesible. Al catalizar el intercambio de disulfuro, la rotura de un enlace S—S y su reformación con una diferente cisteína compañera, la disulfuro isomerasa de proteína, facilita la formación de enlaces disulfuro y estabiliza la conformación natural de una proteína.

Prolina-*cis, trans*-isomerasa

Todos los enlaces peptídicos X-Pro —donde X representa cualquier residuo— se sintetizan en la configuración *trans*. Sin embargo, de los enlaces X-Pro de proteínas maduras, alrededor de 6% es *cis*. La configuración *cis* es en particular frecuente en giros β. La isomerización desde *trans* hacia *cis* es catalizada por la enzima prolina-*cis, trans*-isomerasa (fig. 5-10).

El plegado es un proceso dinámico

Las proteínas son moléculas dinámicas desde el punto de vista conformacional, mismas que se pueden plegar y desdoblar cientos o miles de veces durante su lapso de vida. ¿De qué modo las proteínas, una vez desdobladas, se vuelven a plegar y restituyen su conformación funcional? En primer lugar, el desdoblamiento rara vez lleva a la aleatorización completa de la cadena polipeptídica dentro de la célula. Las proteínas desdobladas por lo general retienen varios contactos y regiones de estructura secundaria que facilitan el proceso de reaparición del plegado. En segundo lugar, las proteínas chaperón pueden "rescatar" proteínas desdobladas que han quedado atrapadas en el aspecto termodinámico en un callejón sin salida con plegado erróneo, al desdoblar regiones hidrofóbicas y proporcionar una segunda oportunidad para que se plieguen de manera productiva. El glutatión puede reducir enlaces disulfuro inapropiados que quizá se formen al momento de la exposición a agentes oxidantes, como O_2, peróxido de hidrógeno o superóxido (cap. 52).

PERTURBACIÓN DE LA CONFORMACIÓN DE LA PROTEÍNA PUEDE TENER CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS

Priones

Las encefalopatías espongiformes transmisibles, o **enfermedades por prión**, son enfermedades neurodegenerativas mortales caracteriza-

das por cambios espongiformes, gliomas astrocíticos y pérdida neuronal originada por el depósito de agregados proteínicos insolubles en células neurales. Comprenden la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob en seres humanos, encefalopatía espongiforme en ovejas y encefalopatía espongiforme en el ganado vacuno (enfermedad de las vacas locas). Una forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la vCJD, misma que afecta a pacientes más jóvenes, se relaciona con trastornos psiquiátricos y conductuales de inicio temprano. Las enfermedades por prión llegan a manifestarse como trastornos infecciosos, genéticos o esporádicos. Dado que es imposible identi car un gen viral o bacteriano que codi ca la proteína prión patológica, la fuente y el mecanismo de transmisión de la enfermedad por prión permanecieron sin determinarse durante mucho tiempo. Hoy es reconocido que las enfermedades por prión son trastornos de conformación de proteína que se transmiten al alterar la conformación y, por ende, las propiedades físicas, de proteínas endógenas para el huésped. La proteína relacionada con prión, PrP, de seres humanos, una glucoproteína codi cada en el brazo corto del cromosoma 20, en circunstancias normales es monomérica y rica en hélice α. Las proteínas prión patológicas sirven como las plantillas para la transformación conformacional de la PrP normal, conocida como PrPc (celular), hacia PrPsc *(scrapie)*; esta última es rica en hojas β con muchas cadenas laterales aminoacilo hidrofóbicas expuestas a solvente. A medida que se forma cada nueva molécula de PrPsc, desencadena la producción de aún más variantes patológicas en una reacción en cadena conformacional. Dado que las moléculas de PrPsc se relacionan con fuerza entre sí por medio de sus regiones hidrofóbicas expuestas, las unidades de PrPsc que se están acumulando muestran coalescencia y forman agregados resistentes a proteasa insolubles. Puesto que un prión o una proteína relacionada con prión patológico pueden servir como la plantilla para la transformación conformacional de muchas veces su número de moléculas de PrPc, las enfermedades por prión pueden transmitirse mediante la proteína sola sin afección del DNA o el RNA.

Enfermedad de Alzheimer

La reaparición del plegado o el plegado erróneo de otra proteína endógena al tejido cerebral de seres humanos, el amiloide β, es una característica notoria de la enfermedad de Alzheimer. Si bien la causa principal de dicha enfermedad aún no se ha dilucidado, las placas seniles y los heces neuro brilares característicos contienen agregados de la proteína amiloide β, polipéptido de 4.3 kDa producido por división proteolítica de una proteína de mayor tamaño conocida como proteína precursora amiloide. En pacientes con enfermedad de Alzheimer, las cifras de amiloide β aumentan, y esta proteína pasa por una transformación conformacional desde un estado rico en hélice α soluble hacia un estado abundante en hoja β y propenso a la autoagregación. La apolipoproteína E ha quedado comprendida como un mediador potencial de esta transformación conformacional.

Talasemias β

Las talasemias se producen por defectos genéticos que alteran la síntesis de una de las subunidades polipeptídicas de la hemoglobina (cap. 6). En el transcurso del brote de síntesis de hemoglobina que ocurre durante el desarrollo de eritrocitos, un chaperón especí co llamado proteína estabilizadora de hemoglobina α (o proteína estabilizante de cadena alfa) (AHSP) se une a subunidades α de hemoglobina libres en espera de incorporación hacia el multímero de hemoglobina. En ausencia de este chaperón, las subunidades de hemoglobina α libres se agregan y el precipitado resultante tiene efectos tóxicos sobre el eritrocito en desarrollo. Investigaciones en ratones modi cados desde el punto de vista genético sugieren una participación para la AHSP en la modulación de la gravedad de la talasemia β en seres humanos.

EL COLÁGENO ILUSTRA LA FUNCIÓN DEL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL EN LA MADURACIÓN DE PROTEÍNA

La maduración de proteína a menudo comprende la formación y la rotura de enlaces covalentes

La maduración de proteínas hacia su estado estructural nal a menudo comprende la división o formación (o ambas) de enlaces covalentes, un proceso de **modi cación postraduccional**. Muchos polipéptidos en un inicio se sintetizan como precursores de mayor tamaño llamados **proproteínas**. Los segmentos polipeptídicos “extra” en estas proteínas a menudo sirven como secuencias líder que dirigen un polipéptido hacia un organelo particular o facilitan su paso a través de una membrana. Otros segmentos aseguran que la actividad en potencia perjudicial de una proteína —como las proteasas tripsina y quimotripsina— permanezca inhibida, en tanto estas proteínas lleguen a su destino nal. Sin embargo, una vez que se satisfacen esos requerimientos transitorios, las regiones peptídicas ahora super uas se eliminan mediante proteólisis selectiva. Quizá tengan lugar otras modi caciones covalentes que añaden nuevas funcionalidades químicas a una proteína. La maduración del colágeno ilustra ambos procesos.

El colágeno es una proteína fibrosa

El colágeno es la más abundante de las proteínas brosas y constituye más de 25% de la masa proteínica en el organismo humano; otras proteínas brosas importantes son la queratina y la miosina. Dichas proteínas brosas representan una fuente primaria de fuerza estructural para las células (esto es, el citoesqueleto) y los tejidos. La exibilidad y la fuerza de la piel dependen de una red entrelazada de bras de colágeno y queratina, mientras que los huesos y los dientes son apuntalados por una red subyacente de bras de colágeno análogas a los lamentos de acero en el concreto reforzado. El colágeno también está presente en tejidos conjuntivos, como ligamentos y tendones. El alto grado de resistencia a la tracción, necesario para satisfacer estas funciones estructurales, requiere proteínas alargadas, las cuales se caracterizan por secuencias de aminoácidos repetitivas y una estructura secundaria regular.

El colágeno forma una triple hélice singular

El tropocolágeno consta de tres bras, cada una de las cuales contiene alrededor de 1 000 aminoácidos, agrupadas en una conformación singular, la triple hélice de colágeno (g. 5-11). Una bra de colágeno madura forma una varilla alargada con una proporción

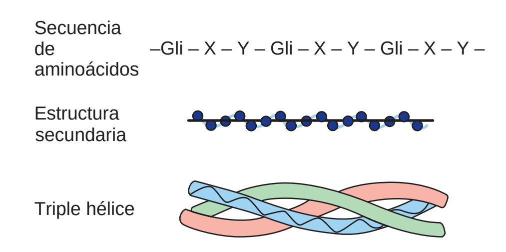


FIGURA 5-11 Estructuras primaria, secundaria y terciaria del colágeno.

axial de alrededor de 200. Tres hebras polipeptídicas entrelazadas, que se tuercen hacia la izquierda, se envuelven entre sí en dirección hacia la derecha para formar la triple hélice de colágeno. La lateralidad opuesta de esta superhélice y sus polipéptidos componentes hacen que la triple hélice de colágeno sea muy resistente al desdoblamiento —el mismo principio usado en cables de acero de puentes colgantes—. Una triple hélice de colágeno tiene 3.3 residuos por giro y una elevación por cada residuo de cerca de dos veces la de una hélice α. Los grupos R de cada hebra polipeptídica de la triple hélice se aprietan de manera tan estrecha que, para que se ajusten, uno debe ser glicina, de modo que cada tercer residuo aminoácido en el colágeno es un residuo glicina. El escalonamiento de las tres hebras proporciona una colocación apropiada de las glicinas requisito en toda la hélice. El colágeno también tiene alto contenido de prolina e hidroxiprolina, lo que da un modelo Gli-X-Y repetitivo (g. 5-11), en el cual la Y por lo general es prolina o hidroxiprolina.

Las triples hélices de colágeno se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno entre residuos en *diferentes* cadenas polipeptídicas, proceso auxiliado por los grupos hidroxilo de residuos hidroxiprolilo. Enlaces covalentes formados entre residuos lisilo modi cados tanto dentro de cadenas polipeptídicas como entre las mismas, proporcionan estabilidad adicional.

El colágeno se sintetiza como un precursor de mayor tamaño

El colágeno en un inicio se sintetiza como un polipéptido precursor de mayor tamaño, el procolágeno. Muchos residuos prolilo y lisilo de procolágeno se hidroxilan mediante la propilo hidroxilasa y la lisilo hidroxilasa, enzimas que requieren ácido ascórbico (vitamina C; caps. 27 y 44). Los residuos hidroxiprolilo e hidroxilisilo proporcionan capacidad adicional de formación de enlaces de hidrógeno que estabiliza la proteína madura. Además, las glucosilo y galactosilo transferasas jan residuos glucosilo o galactosilo a los grupos hidroxilo de residuos hidroxilisilo especí cos.

La porción central del polipéptido precursor se asocia entonces con otras moléculas y forma la triple hélice característica; dicho proceso va acompañado de la eliminación del amino terminal globular y de extensiones carboxilo terminales del polipéptido precursor mediante proteólisis selectiva. La lisilo oxidasa, proteína que contiene cobre, que convierte grupos ϵ-amino en aldehídos, modi ca ciertos residuos lisilo. Los aldehídos pueden pasar por una condensación de aldol para formar un doble enlace C═C, o para formar una base de Schi (eneimina) con el grupo ϵ-amino de un residuo lisilo no modi cado, que después se reduce y forma un enlace C—N único. Estos enlaces covalentes unen los polipéptidos individuales y con eren a la bra fuerza y rigidez excepcionales.

Los trastornos nutricionales y genéticos pueden alterar la maduración del colágeno

La compleja serie de eventos en la maduración del colágeno proporciona un modelo que ilustra las consecuencias biológicas de la maduración incompleta de polipéptidos. El defecto mejor conocido de la biosíntesis de colágeno es el escorbuto, un resultado de una de ciencia en la dieta de vitamina C requerida por las prolilo y lisilo hidroxilasas. El dé cit resultante del número de residuos hidroxiprolina e hidroxilisina socava la estabilidad conformacional de las bras de colágeno, lo que lleva a encías sangrantes, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y, por último, la muerte. El síndrome de Menkes, caracterizado por pelo rizado y retraso del crecimiento, re eja una de ciencia en la dieta del cobre requerido por la lisilo oxidasa, que cataliza un paso clave en la formación de enlaces covalentes que fortalecen las bras de colágeno.

Los trastornos genéticos de la biosíntesis de colágeno comprenden varias formas de osteogénesis imperfecta, la cual se distingue por la presencia de huesos frágiles. En el síndrome de Ehlers-Danlos, un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que comprenden alteración de la integridad de las estructuras de apoyo, defectos en los genes que codi can para el α colágeno-1, procolágeno *N*-peptidasa o lisilo hidroxilasa, dan por resultado articulaciones móviles y anormalidades de la piel (cap. 48).

RESUMEN

- Las proteínas pueden clasi carse con base en su solubilidad, forma o función, o según la presencia de un grupo prostético, como hem.
- La estructura primaria codi cada por gen de un polipéptido es la secuencia de sus aminoácidos. Su estructura secundaria se produce por plegado de polipéptidos hacia motivos con enlaces de hidrógeno, como la hélice α, la hoja plegada β, exiones β y asas. Las combinaciones de estos motivos pueden formar motivos supersecundarios.
- La estructura terciaria alude a las relaciones entre dominios estructurales secundarios. La estructura cuaternaria de proteínas que tienen dos o más polipéptidos (proteínas oligoméricas) se re ere a las relaciones espaciales entre diversos tipos de polipéptidos.
- Las estructuras primarias se estabilizan por medio de enlaces peptídicos covalentes. Los órdenes de estructura superiores se estabilizan mediante fuerzas débiles —enlaces de hidrógeno múltiples, enlaces salinos (electrostáticos) y asociación de grupos R hidrofóbicos.
- El ángulo (Φ) de un polipéptido es el ángulo alrededor del enlace C_α—N; el ángulo psi (ψ) es el que hay alrededor del enlace C_α—C_o. Casi todas las combinaciones de ángulos -psi son denegadas debido a obstaculización estérica. Los ángulos -psi que forman la hélice α y la hoja β caen dentro de los cuadrantes inferior y superior izquierdos de un grá co de Ramachandran, respectivamente.
- Aún hay poca comprensión en cuanto al proceso del plegado de proteína. En términos generales, los segmentos cortos de polipéptidos recién sintetizados se pliegan hacia unidades estructurales secundarias. Las fuerzas que sepultan regiones hidrofóbicas desde el solvente después impulsan al polipéptido parcialmente plegado hacia un "glóbulo fundido", en el cual los módulos de estructura secundaria se reordenan para dar la conformación natural de la proteína.
- Las proteínas que ayudan al plegado comprenden la proteína disulfuro isomerasa, prolina-*cis*, *trans*-isomerasa y los chaperones

que participan en el plegado de más de la mitad de las proteínas de mamífero. Los chaperones protegen contra solvente a los polipéptidos recién sintetizados, además de que proporcionan un ambiente para que elementos de la estructura secundaria surjan y muestren coalescencia para formar glóbulos fundidos.

- Las técnicas para el estudio de órdenes superiores de estructura de proteína comprenden cristalografía con rayos X, espectroscopia con NMR, ultracentrifugación analítica, ltración en gel y electroforesis en gel.
- El colágeno ilustra el estrecho enlace entre la estructura de proteínas y la función biológica. Las enfermedades de la maduración del colágeno comprenden el síndrome de Ehlers-Danlos y el escorbuto, la enfermedad por de ciencia de vitamina C.
- Los priones —partículas de proteína que carecen de ácido nucleico— causan encefalopatías espongiformes transmisibles y mortales, como la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob o las encefalopatías espongiformes ovina y bovina. Las enfermedades por prión comprenden una estructura secundaria-terciaria alterada de una proteína natural, la PrPc. Cuando esta última interactúa con su isoforma patológica, PrPsc, su conformación se transforma desde una estructura predominantemente helicoidal α hacia la estructura con hoja β característica de la PrPsc.

REFERENCIAS

Branden C, Tooze J: *Introduction to Protein Structure.* Garland, 1991.

Chiti F, Dobson CM: Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. Annu Rev Biochem 2006;75:519.

Collinge J: Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. Annu Rev Neurosci 2001;24:519.

Foster MP et al: Solution NMR of large molecules and assemblies. Biochemistry 2007;46:331.

Frydman J: Folding of newly translated proteins in vivo: the role of molecular chaperones. Annu Rev Biochem 2001; 70:603.

Gothel SF, Marahiel MA: Peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerases, a superfamily of ubiquitous folding catalysts. Cell Mol Life Sci 1999;55:423.

Hajdu J et al: Analyzing protein functions in four dimensions. Nat Struct Biol 2000;7:1006.

Hardy J: Toward Alzheimer therapies based on genetic knowledge. Annu Rev Med 2004;55:15.

Ho BK, omas A, Brasseur R: Revisiting the Ramachandran plot: hard-sphere repulsion, electrostatics, and H-bonding in the α-helix. Protein Sci 2003;12:2508.

Irani DN, Johnson RT: Diagnosis and prevention of bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease. Annu Rev Med 2003;54:305.

Jorgensen WL: e many roles of computation in drug discovery. Science 2004;303:1813.

Khare SD, Dokholyan NV: Molecular mechanisms of polypeptide aggregation in human disease. Curr Protein Pept Sci 2007;8:573.

Kong Y et al: Loss of alpha-hemoglobin-stabilizing protein impairs erythropoiesis and exacerbates beta-thalassemia. J Clin Invest 2004;114:1457.

Myers JK, Oas TG: Mechanism of fast protein folding. Annu Rev Biochem 2002;71:783.

Myllyharju J: Prolyl 4-hydroxylases, the key enzymes of collagen biosynthesis. Matrix Biol 2003;22:15.

Radord S: Protein folding: progress made and promises ahead. Trends Biochem Sci 2000;25:611.

Rider MH et al: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Segrest MP et al: e amphipathic alpha-helix: a multifunctional structural motif in plasma lipoproteins. Adv Protein Chem 1995;45:1.

Stoddard BL et al: Millisecond Laue structures of an enzyme-product complex using photocaged substrate analogs. Nat Struct Biol 1998;5:891.

Wegrzyn RD, Deuerling E: Molecular guardians for newborn proteins: ribosome-associated chaperones and their role in protein folding. Cellular Mol Life Sci 2005;62:2727.

Young JC, Moare I, Hartl FU: *Hsp*90: a specialized but essential protein-folding tool. J Cell Biol 2001;154:267.

CAPÍTULO

6

Proteínas: mioglobina y hemoglobina

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas hem, mioglobina y hemoglobina, mantienen un aporte de oxígeno esencial para el metabolismo oxidativo. La mioglobina, una proteína monomérica del músculo esquelético, almacena oxígeno como una reserva contra la privación del mismo. La hemoglobina, una proteína tetramérica de los eritrocitos, transporta O_2 hacia los tejidos, y favorece el transporte de CO_2 y protones hacia los pulmones. El cianuro y el monóxido de carbono son letales porque alteran la función fisiológica de las proteínas hem citocromo oxidasa y hemoglobina, respectivamente. La estructura secundaria-terciaria de las subunidades de hemoglobina semeja a la de la mioglobina. Sin embargo, la estructura tetramérica de la hemoglobina permite interacciones cooperativas fundamentales para su función. Por ejemplo, el 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) promueve la liberación eficiente de O_2 al estabilizar la estructura cuaternaria de la desoxihemoglobina. La hemoglobina y la mioglobina ilustran tanto relaciones entre estructura y función de proteína, como la base molecular de enfermedades genéticas, como la drepanocitosis y las talasemias.

LOS HIERROS HEM Y FERROSO CONFIEREN LA CAPACIDAD PARA ALMACENAR OXÍGENO Y TRANSPORTARLO

La mioglobina y la hemoglobina contienen **hem (hemo)**, un tetrapirrol cíclico que consta de cuatro moléculas de pirrol enlazadas por puentes de α-metileno. Esta red planar de dobles enlaces conjugados absorbe luz visible y da al hem un color rojo oscuro. Los sustitutos en las posiciones β son grupos metilo (M), vinilo (V) y propionato (Pr) dispuestos en el orden M, V, M, V, M, Pr, Pr, M (fig. 6-1). Un átomo de hierro ferroso (Fe^{2+}) reside en el centro del tetrapirrol planar. Otras proteínas con grupos prostéticos tetrapirrol que contienen metal comprenden los citocromos (Fe y Cu) y la clorofila (Mg) (cap. 31). La oxidación y reducción de los átomos de Fe y Cu de citocromos son esenciales para su función biológica como transportadores de electrones. En contraste, la oxidación del Fe^{2+} de la mioglobina o de la hemoglobina hacia Fe^{3+} destruye su actividad biológica.

La mioglobina es rica en hélice α

El oxígeno almacenado en la mioglobina del músculo esquelético, es liberada durante disminución de la tensión de O_2 (p. ej., ejercicio intenso) para que las mitocondrias del músculo lo utilicen en la síntesis aeróbica de ATP (cap. 13). La mioglobina, un polipéptido de 153 residuos aminoacilo (masa molecular relativa [M_r] de 17 000), se pliega hacia una forma compacta que mide 4.5 × 3.5 × 2.5 nm (fig. 6-2). Proporciones extraordinariamente altas, alrededor de 75%, de los residuos están presentes en ocho hélices α diestras de 7 a 20 residuos. Empezando en el amino terminal, éstas se denominan hélices A-H. Típico de las proteínas globulares, la superficie de la mioglobina es polar, mientras que —con dos excepciones— el interior sólo contiene residuos no polares, como Leu, Val, Fen y Met. Las excepciones son His E7 y His F8, los residuos séptimo y octavo en hélices E y F, que yacen cerca del hierro hem, donde funcionan en la unión de O_2.

Las histidinas F8 y E7 desempeñan funciones singulares en la unión de oxígeno

El hem de la mioglobina yace en una hendidura entre las hélices E y F orientado por sus grupos polares propionato mirando hacia la superficie de la globina (fig. 6-2). El resto reside en el interior no polar. La quinta posición de coordinación del hierro está enlazada al átomo de nitrógeno de la **histidina proximal**, His F8. La **histidina distal**, His E7, se ubica en el lado opuesto del anillo hem a His F8.

El hierro se mueve hacia el plano del hem cuando el oxígeno está unido

El hierro de la mioglobina no oxigenada yace a 0.03 nm (0.3 Å) fuera del plano del anillo hem, hacia His F8; por ende, el hem "se pliega" un poco. Cuando el O_2 ocupa la sexta posición de coordinación, el hierro se mueve hacia dentro de 0.01 nm (0.1 Å) del plano del anillo hem. De este modo, la oxigenación de la mioglobina se acompaña de movimiento del hierro, de His F8, y de residuos enlazados a este último.

La apomioglobina proporciona un ambiente adverso para el hierro hem

Cuando el O_2 se une a la mioglobina, el enlace entre el primer átomo de oxígeno y el Fe^{2+} es perpendicular al plano del anillo hem. El enlace que une el primero y segundo átomos de oxígeno yace a un ángulo de 121° al plano del hem, lo que orienta al segundo oxígeno en dirección contraria a la histidina distal (fig. 6-3, izquierda). El

FIGURA 6-1 Hem. Los anillos pirrol y los carbonos de puente de metileno son coplanares, y el átomo de hierro (Fe^{2+}) reside casi en el mismo plano. La quinta y sexta posiciones de coordinación de Fe^{2+} están dirigidas perpendiculares —y directamente por arriba y por debajo de— al plano del anillo hem. Observe la naturaleza de los grupos sustituyentes metilo (azul), vinilo (verde) y propionato (naranja) en los carbonos β de los anillos pirrol, el átomo de hierro central (rojo) y la localización del lado polar del anillo hem (a alrededor de las 7 de la carátula del reloj) que mira hacia la superficie de la molécula de mioglobina.

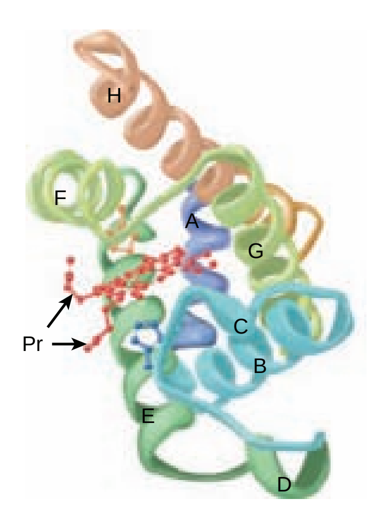


FIGURA 6-2 Estructura tridimensional de la mioglobina. Se muestra un diagrama de listones que traza el esqueleto polipeptídico de la mioglobina. El color de la cadena polipeptídica está graduado a lo largo del espectro visible desde azul (N terminal) hasta marrón claro (C terminal). El grupo prostético hem se muestra en color rojo. Las regiones helicoidales α están designadas de la A a la H. Los residuos histidina distal (E7) y proximal (F8) están resaltados en azul y naranja, respectivamente. Note de qué modo los sustituyentes propionato polares (Pr) se proyectan hacia afuera del hem hacia el agua. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1a6n.)

hem aislado se une al monóxido de carbono (CO) con una fuerza 25 000 veces mayor que la que le une al oxígeno. Dado que el CO está presente en pequeñas cantidades en la atmósfera, y surge en células a partir del catabolismo del hem, ¿por qué el CO no desplaza por completo al O_2 del hierro hem? La explicación aceptada es que las apoproteínas de la mioglobina y la hemoglobina crean un **ambiente adverso**. Cuando el CO se une a hem aislado, los tres átomos (Fe, C y O) yacen en posición perpendicular al plano del hem. Sin embargo, en la mioglobina y la hemoglobina la histidina distal por impedimento estérico evita esta orientación de alta afinidad. La unión a un ángulo menos favorecido reduce la fuerza del enlace hem-CO a alrededor de 200 veces la del enlace hem-O_2 (fig. 6-3, derecha) a cuyo nivel domina el gran exceso de O_2 sobre el CO normalmente presente. Sin embargo, por lo general alrededor de 1% de la mioglobina está presente combinada con CO.

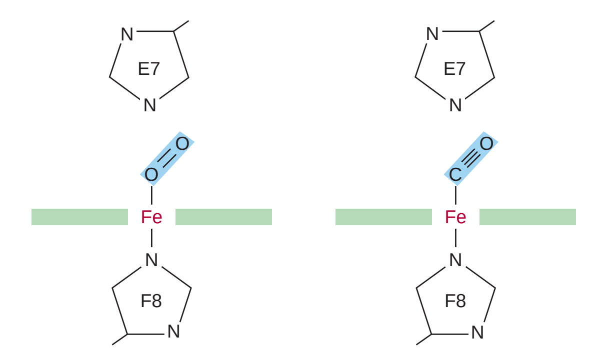


FIGURA 6-3 Ángulos para la unión de oxígeno y monóxido de carbono (CO) al hierro hem de la mioglobina. La histidina E7 distal obstaculiza el enlace de CO en el ángulo preferido (90º) al plano del anillo hem.

LAS CURVAS DE DISOCIACIÓN DE OXÍGENO PARA LA MIOGLOBINA Y LA HEMOGLOBINA SON IDÓNEAS PARA SUS FUNCIONES FISIOLÓGICAS

¿Por qué la mioglobina no es adecuada como una proteína de transporte de O_2, pero es ideal para el almacenamiento de O_2? La relación entre la concentración, o presión parcial, de O_2 (Po_2) y la cantidad de O_2 unido se expresa como una isoterma de saturación de O_2 (fig. 6-4). La curva de unión a oxígeno para la mioglobina es hiperbólica; por ende, la mioglobina carga O_2 con facilidad a la Po_2 del lecho capilar pulmonar (100 mm Hg). Sin embargo, dado que la mioglobina sólo libera una pequeña fracción de su O_2 unido a los valores de Po_2 que por lo general se encuentran en el músculo activo (20 mm Hg) o en otros tejidos (40 mm Hg), representa un vehículo ineficaz para el aporte de O_2. Cuando el ejercicio extenuante disminuye la Po_2 del tejido muscular a alrededor de 5 mm Hg, la mioglobina libera O_2 para la síntesis mitocondrial de ATP, lo que permite que continúe la actividad muscular.

LAS PROPIEDADES ALOSTÉRICAS DE LAS HEMOGLOBINAS DEPENDEN DE SUS ESTRUCTURAS CUATERNARIAS

Las propiedades de hemoglobina individuales son consecuencia de su estructura cuaternaria, así como de sus estructuras secundaria y terciaria. La estructura cuaternaria de la hemoglobina confiere notorias propiedades adicionales, ausentes de la mioglobina monomérica, que la adaptan a sus funciones biológicas singulares. Las pro-

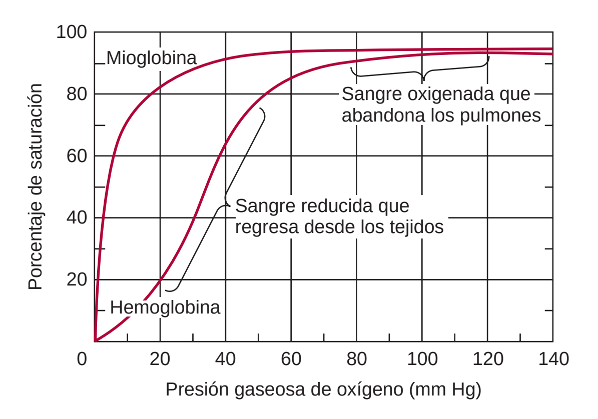


FIGURA 6-4 Curvas de unión a oxígeno de la hemoglobina y la mioglobina. La tensión arterial de oxígeno es de alrededor de 100 mm Hg; la tensión venosa mixta de oxígeno es de alrededor de 40 mm Hg; la tensión de oxígeno capilar (músculo activo) es de cerca de 20 mm Hg, y la tensión de oxígeno mínima requerida para la citocromo oxidasa es de cerca de 5 mm Hg. La asociación de cadenas hacia una estructura tetramérica (hemoglobina) da por resultado un aporte de oxígeno mucho mayor que el que sería posible con cadenas únicas. (Modificado, con autorización, de Scriver CR et al. [editors]: *The Molecular and Metabolic Bases of Inherited Disease,* 7th ed. McGraw-Hill, 1995.)

piedades **alostéricas** (del griego *allos* "otro", *steros* "espacio") de la hemoglobina proporcionan, además, un modelo para entender otras proteínas alostéricas (cap. 18).

La hemoglobina es tetramérica

Las hemoglobinas son tetrámeros compuestos de pares de dos diferentes subunidades polipeptídicas (fig. 6-5). Se usan letras griegas para designar cada subtipo de unidad. La composición de subunidad de las hemoglobinas principales son $\alpha_2\beta_2$ (HbA; hemoglobina normal del adulto), $\alpha_2\gamma_2$ (HbF; hemoglobina fetal), α_2S_2 (HbS; hemoglobina de células falciformes) y $\alpha_2\delta_2$ (HbA$_2$; una hemoglobina menor del adulto). Las estructuras primarias de las cadenas β, γ y δ de la hemoglobina humana están muy conservadas.

La mioglobina y las subunidades β de la hemoglobina comparten estructuras secundaria y terciaria casi idénticas

A pesar de diferencias en la clase y el número de aminoácidos presentes, la mioglobina y el polipéptido β de la hemoglobina A tienen estructuras secundaria y terciaria casi idénticas. Las similitudes comprenden la localización del hem y las regiones helicoidales, y la

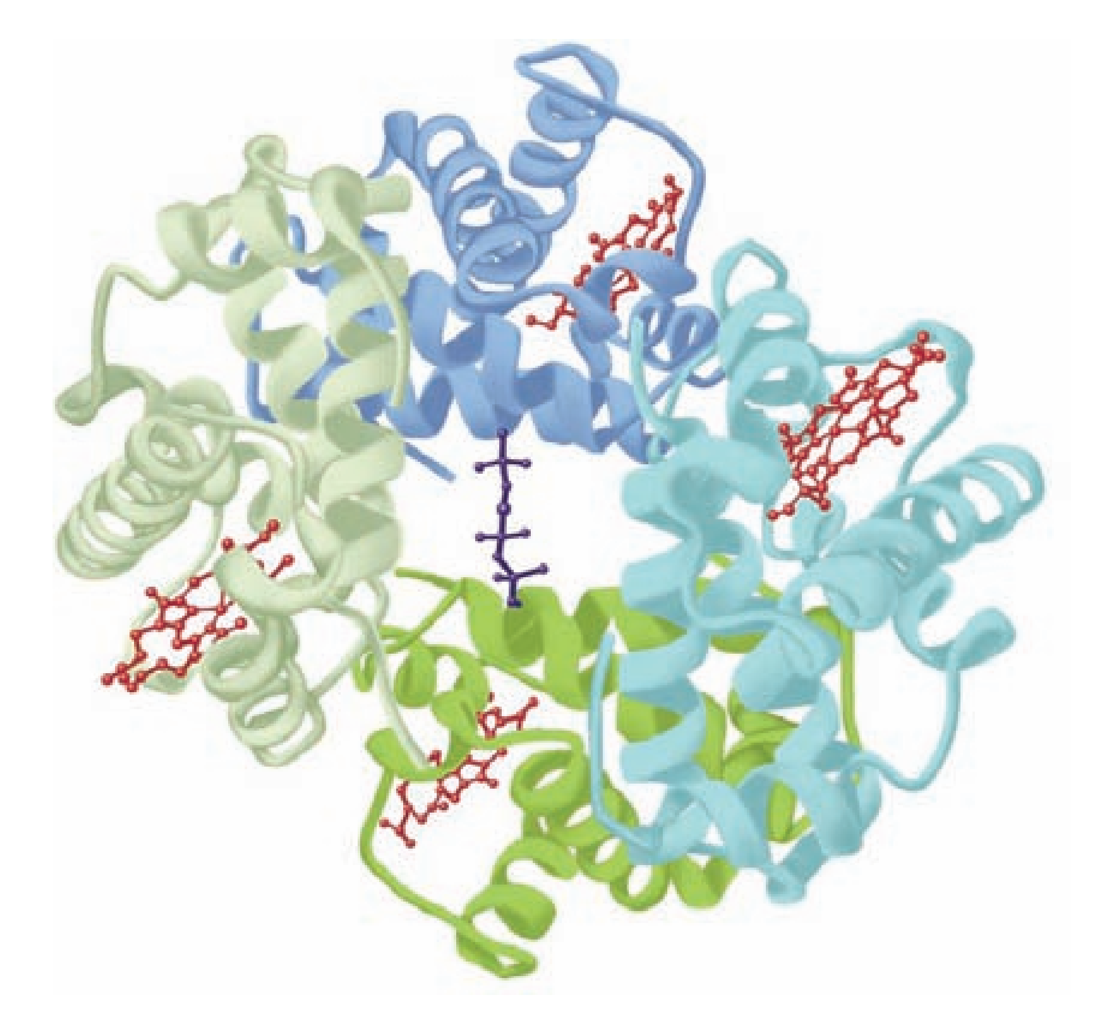


FIGURA 6-5 Hemoglobina. Se muestra la estructura tridimensional de la desoxihemoglobina con una molécula de 2,3-bisfosfoglicerato (azul oscuro) unida. Las dos subunidades α están coloreadas en los tonos más oscuros de verde y azul, en tanto que las dos subunidades β en los tonos más claros de verde y azul, mientras que los grupos prostéticos hem en color rojo. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1b86.)

presencia de aminoácidos con propiedades similares en ubicaciones comparables. Aunque posee siete —en vez de ocho— regiones helicoidales, el polipéptido α de la hemoglobina también semeja de manera estrecha a la mioglobina.

La oxigenación de la hemoglobina desencadena cambios de conformación en la apoproteína

Las hemoglobinas unen cuatro moléculas de O_2 por cada tetrámero, uno por cada hem. Una molécula de O_2 se une a un tetrámero de hemoglobina con mayor facilidad si otras moléculas de O_2 ya están unidas (fig. 6-4). Este fenómeno, llamado **unión cooperativa**, permite a la hemoglobina maximizar tanto la cantidad de O_2 cargada a la Po_2 de los pulmones, como la cantidad de O_2 liberada a la Po_2 de los tejidos periféricos. Las interacciones cooperativas, una propiedad exclusiva de proteínas multiméricas, tienen importancia crucial para la vida aeróbica.

La P_{50} expresa las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno

La cantidad P_{50}, una medida de la concentración de O_2, es la presión parcial de O_2 que satura 50% de una hemoglobina dada. Dependiendo del organismo, la P_{50} puede variar de manera significativa, pero en todos los casos excederá la Po_2 de los tejidos periféricos. Por ejemplo, los valores de P_{50} para HbA y HbF son de 26 y 20 mm Hg, respectivamente. En la placenta, tal diferencia permite que la HbF extraiga oxígeno de la HbA en la sangre de la madre. Sin embargo, la HbF es subóptima posparto porque su alta afinidad por el O_2 limita la cantidad de O_2 suministrado a los tejidos.

La composición de subunidad de tetrámeros de hemoglobina sufre cambios complejos durante el desarrollo. El feto humano en un inicio sintetiza un tetrámero $\zeta_2\varepsilon_2$. Hacia el final del primer trimestre, las subunidades ζ y ε han quedado remplazadas por subunidades α y γ, lo que forma HbF ($\alpha_2\gamma_2$), la hemoglobina de etapas avanzadas de la vida fetal. Si bien la síntesis de subunidades β empieza durante el tercer trimestre, dichas subunidades no remplazan por completo a las subunidades γ características de la HbA del adulto ($\alpha_2\beta_2$) sino hasta algunas semanas después del parto (fig. 6-6).

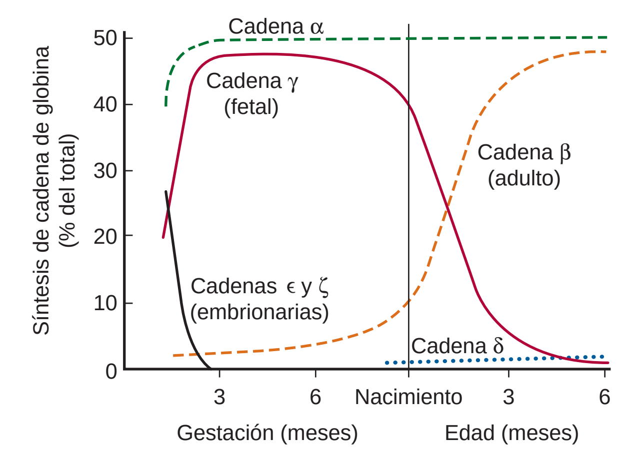


FIGURA 6-6 Modelo de desarrollo de la estructura cuaternaria de las hemoglobinas fetal y de recién nacido. (Reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology,* 20th ed. McGraw-Hill, 2001.)

La oxigenación de la hemoglobina se acompaña de grandes cambios de conformación

La unión de la primera molécula de O_2 a la desoxiHb desvía el hierro hem hacia el plano del anillo hem desde una posición alrededor de 0.04 nm más allá del mismo (fig. 6-7). Este movimiento se transmite a la histidina proximal (F8) y a los residuos fijos a ella lo que, a su vez, causa la rotura de puentes salinos entre los residuos carboxi-

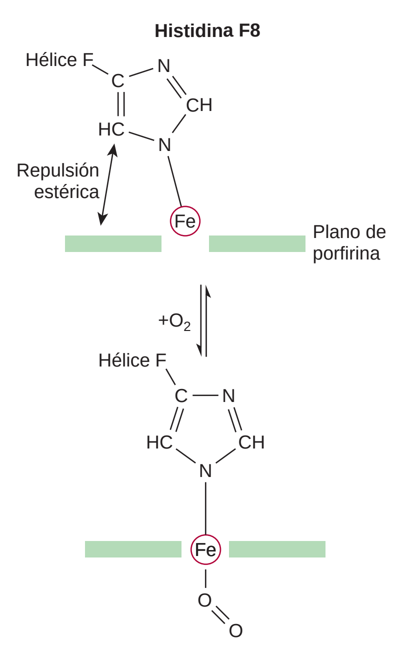


FIGURA 6-7 El átomo de hierro se mueve hacia el plano del hem en el momento de la oxigenación. La histidina F8 y sus residuos asociados son llevados junto con el átomo de hierro. (Modificado y reproducido, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry,* 4th ed. Freeman, 1995. Copyright © 1995 W. H. Freeman and Company.)

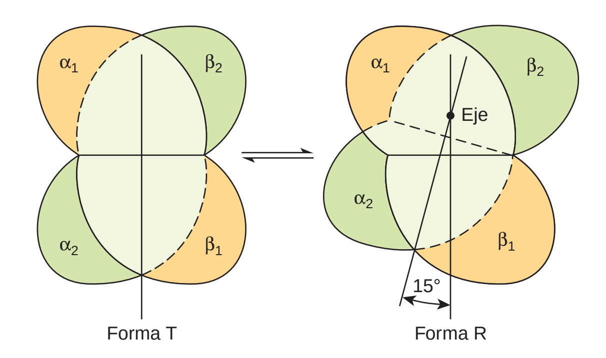


FIGURA 6-8 Durante la transición de la forma T a la forma R de la hemoglobina, el par de subunidades $\alpha_2\beta_2$ (verde) rota por 15° respecto del par de subunidades $\alpha_1\beta_1$ (amarillo). El eje de rotación es excéntrico y el par $\alpha_2\beta_2$ también se desvía un poco hacia el eje. En la representación, el par $\alpha_1\beta_1$ de color marrón claro se muestra fijo, mientras que el par $\alpha_2\beta_2$ de subunidades verde se desvía y rota.

lo terminal de las cuatro subunidades. Como resultado, un par de subunidades α/β rota 15 grados respecto del otro, lo que compacta el tetrámero (fig. 6-8). Profundos cambios de las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria acompañan a la transición de alta afinidad inducida por O_2 de la hemoglobina desde el **estado T (tenso)** de baja afinidad hacia el **estado R (relajado)** de alta afinidad. Estos cambios aumentan de manera importante la afinidad de los hemes no oxigenados restantes por el O_2, puesto que los eventos de unión subsiguientes requieren la rotura de menos puentes salinos (fig. 6-9). Los términos T y R también se usan para hacer referencia a las conformaciones de afinidad baja y alta de enzimas alostéricas, respectivamente.

Después de liberar O_2 en los tejidos, la hemoglobina transporta CO_2 y protones hacia los pulmones

Además de transportar O_2 desde los pulmones hacia los tejidos periféricos, la hemoglobina transporta CO_2, el subproducto de la respiración, y protones, desde los tejidos periféricos hacia los pulmones. La hemoglobina porta CO_2 al unirse al nitrógeno amino terminal de las cadenas polipeptídicas de la fracción apoproteica.

$$CO_2 + Hb{-}NH_3^+ \rightleftharpoons 2H^+ + Hb{-}\overset{H}{N}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^-$$

Los carbamatos cambian la carga en terminales amino desde positiva hacia negativa, lo que favorece la formación de puentes salinos entre las cadenas α y β.

Los carbamatos de hemoglobina explican alrededor de 15% del CO_2 en la sangre venosa. Gran parte del CO_2 restante se transporta como bicarbonato, que se forma en los eritrocitos mediante la hidratación de CO_2 hacia ácido carbónico (H_2CO_3), un proceso catalizado por la anhidrasa carbónica. Al pH de la sangre venosa, el H_2CO_3 se disocia hacia bicarbonato y un protón.

$$CO_2 + H_2O \xrightleftharpoons{\text{ANHIDRASA CARBÓNICA}} \underset{\text{Ácido carbónico}}{H_2CO_3} \xrightleftharpoons{(\textit{Espontánea})} HCO_3^- + H^+$$

La desoxihemoglobina une un protón por cada dos moléculas de O_2 liberadas, lo que contribuye de manera significativa a la capacidad amortiguadora de la sangre. El pH un poco más bajo de los tejidos periféricos, auxiliado por la carbamación, estabiliza el estado T y, así, aumenta el aporte de O_2. En los pulmones, el proceso se revierte. A medida que el O_2 se une a la desoxihemoglobina, se liberan protones y se combinan con bicarbonato para formar ácido carbónico. La deshidratación del H_2CO_3, catalizada por la anhidrasa carbónica, forma CO_2, que se exhala. De este modo, la unión de oxígeno impulsa la exhalación de CO_2 (fig. 6-10). Este acoplamiento recíproco de unión de protón y O_2 se denomina el **efecto Bohr**, el cual depende de **interacciones cooperativas entre los hemes del tetrámero de hemoglobina**. La mioglobina, un monómero, no muestra efecto Bohr.

Los protones surgen a partir de la rotura de puentes salinos cuando se une O_2

Los protones de los cuales depende el efecto Bohr surgen a partir de la rotura de puentes salinos durante el enlace de O_2 a la hemoglobina en estado T. La conversión hacia el estado R oxigenado rompe puentes salinos que comprenden el residuo His 146 de la cadena β.

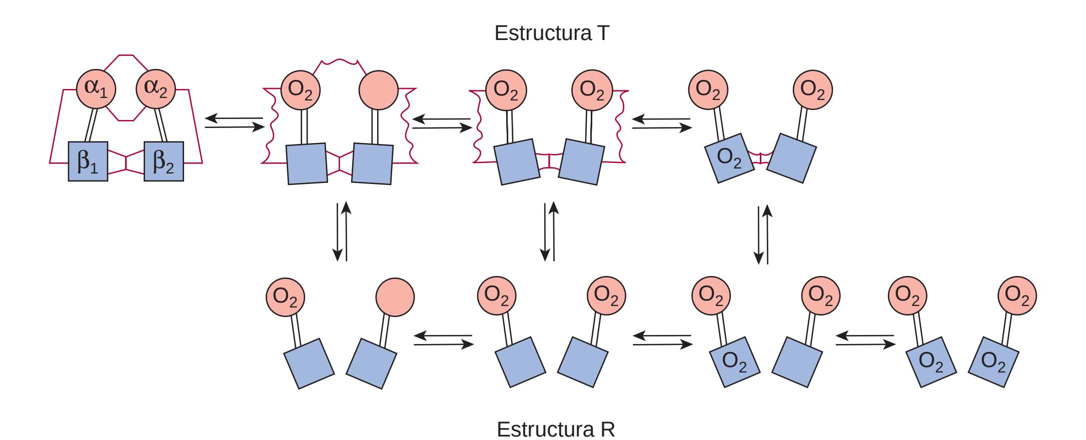


FIGURA 6-9 Transición desde la estructura T hacia la estructura R. En este modelo, puentes salinos (líneas rojas) que unen las subunidades en la estructura T se rompen de manera progresiva a medida que se agrega oxígeno, incluso los puentes salinos que todavía no se han roto se debilitan de manera progresiva (líneas de color rojo onduladas). La transición desde T hacia R no tiene lugar después de que un número fijo de moléculas de oxígeno se ha unido, sino que se hace más probable a medida que cada oxígeno sucesivo se une. La transición entre ambas estructuras está influida por protones, dióxido de carbono, cloruro y BPG; mientras más alta es su concentración, más oxígeno debe unirse para desencadenar la transición. Las moléculas oxigenadas por completo en la estructura T y las moléculas por completo desoxigenadas en la estructura R no se muestran porque son inestables. (Modificado y redibujado, con autorización, de Perutz MF: Hemoglobin structure and respiratory transport. Sci Am [Dec] 1978; 239:92.)

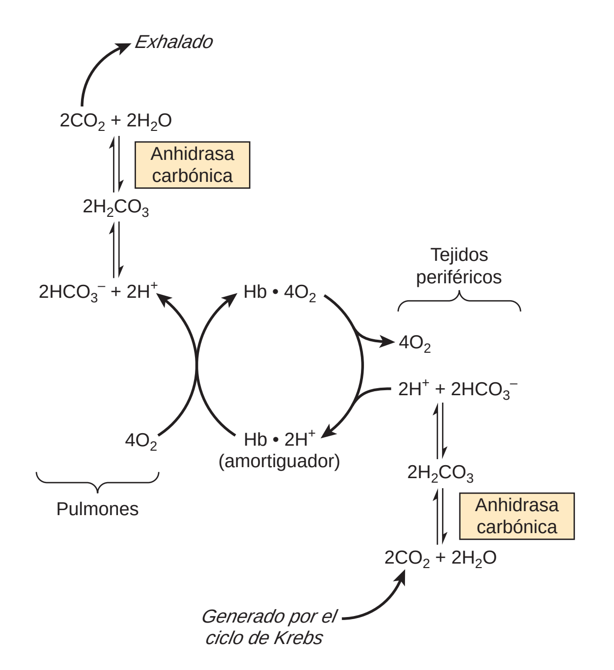


FIGURA 6-10 El efecto Bohr. El dióxido de carbono generado en tejidos periféricos se combina con agua para formar ácido carbónico, el cual se disocia hacia protones y iones de bicarbonato. La desoxihemoglobina actúa como un amortiguador al unir protones y llevarlos a los pulmones. En estos últimos, la captación de oxígeno por la hemoglobina libera protones que se combinan con el ion bicarbonato; ello forma ácido carbónico, que cuando se deshidrata mediante la anhidrasa carbónica se convierte en dióxido de carbono, que entonces se exhala.

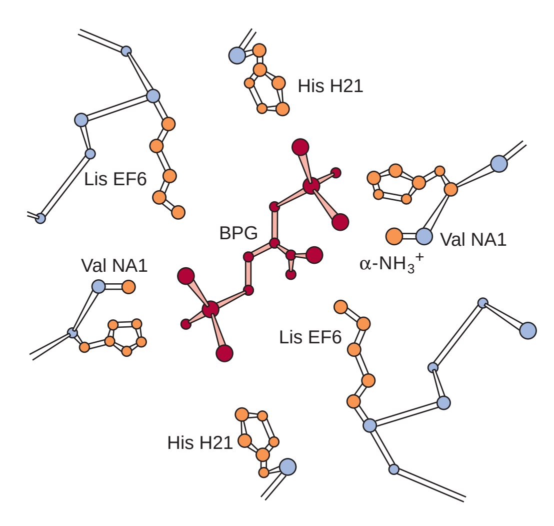


FIGURA 6-11 Modo de unión del 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) a la desoxihemoglobina humana. El BPG interactúa con tres grupos que tienen carga positiva sobre cada cadena β. (Basado en Arnone A: X-ray diffraction study of binding of 2,3-diphosphoglycerate to human deoxyhemoglobin. Nature 1972;237:146. Copyright © 1972. Adaptado con autorización de Macmillan Publishers Ltd.)

La disociación subsiguiente de protones desde His 146 impulsa la conversión de bicarbonato hacia ácido carbónico (fig. 6-10). En el momento de la liberación de O_2, vuelven a formarse la estructura T y sus puentes salinos. Este cambio en la conformación aumenta pK_a de los residuos His 146 de la cadena β, que une protones. Al facilitar que vuelvan a formarse puentes salinos, un aumento de la concentración de protón aumenta la liberación de O_2 desde hemoglobina oxigenada (estado R). Por el contrario, un aumento de la Po_2 promueve la liberación de protón.

El 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) estabiliza la estructura T de la hemoglobina

Una Po_2 baja en los tejidos periféricos promueve la síntesis de 2,3-BPG en eritrocitos a partir del intermediario glucolítico 1,3-BPG.

El tetrámero de hemoglobina une una molécula de BPG en la cavidad central formada por sus cuatro subunidades (fig. 6-4). Sin embargo, el espacio entre las hélices H de las cadenas β que revisten la cavidad es lo bastante amplio como para dar cabida a BPG sólo cuando la hemoglobina se encuentra en el estado T. El BPG forma puentes salinos con los grupos amino terminal de ambas cadenas β por medio de Val NA1 y con Lis EF6 y His H21 (fig. 6-11). Por ende, el BPG estabiliza hemoglobina desoxigenada (estado T) mediante formar puentes salinos adicionales que deben romperse antes de la conversión al estado R.

El residuo H21 de la subunidad γ de la HbF es Ser más que His. Dado que Ser no puede formar un puente salino, el BPG se une de manera más débil a la HbF que a la HbA. La estabilización inferior proporcionada al estado T por el BPG explica la mayor afinidad de la HbF por el O_2 que la de la HbA.

Adaptación a grandes alturas

Los cambios fisiológicos que acompañan a la exposición prolongada a grandes altitudes incluyen un aumento del número de eritrocitos y de sus concentraciones de hemoglobina y de BPG. El BPG alto disminuye la afinidad de la HbA por el O_2 (aumenta la P_{50}), lo que incrementa la liberación de O_2 en los tejidos.

SE HAN IDENTIFICADO MUCHAS MUTACIONES QUE AFECTAN LAS HEMOGLOBINAS HUMANAS

Las mutaciones en los genes que codifican para las subunidades α o β de la hemoglobina tienen el potencial de afectar su función biológica. Sin embargo, casi todas las más de 900 mutaciones genéticas conocidas que afectan las hemoglobinas del ser humano son en extremo raras y benignas; además de que no suscitan anormalidades clínicas. Cuando una mutación compromete la función biológica, el estado recibe el nombre de **hemoglobinopatía**. Se estima que más de 7% de la población mundial es portadora de trastornos de la he-

moglobina. En el URL http://globin.cse.psu.edu/ (Globin Gene Server) se proporciona información acerca de hemoglobinas normales y mutantes, y enlaces para las mismas. A continuación se describen ejemplos seleccionados.

Metahemoglobina y hemoglobina M

En la metahemoglobinemia, el hierro hem es férrico en lugar de ferroso, así que la metahemoglobina no puede unirse a O_2 ni transportarlo. En circunstancias normales, la enzima metahemoglobina reductasa reduce el Fe^{3+} de la metahemoglobina hacia Fe^{2+}. La metahemoglobina puede aumentar por oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} como un efecto secundario de agentes como sulfonamidas, por hemoglobina M hereditaria, o como consecuencia de actividad reducida de la enzima metahemoglobina reductasa.

En la hemoglobina M, la histidina F8 (His F8) ha quedado remplazada por la tirosina. El hierro de la HbM forma un complejo iónico apretado con el anión fenolato de la tirosina que estabiliza la forma Fe^{3+}. En las variantes M de hemoglobina de cadena α, el equilibrio de R-T favorece el estado T. La afinidad por el oxígeno está reducida y no hay efecto Bohr. Las variantes M de hemoglobina de cadena β muestran conmutación R-T y, por ende, hay efecto Bohr.

Las mutaciones que favorecen el estado R (p. ej., hemoglobina Chesapeake) aumentan la afinidad por el O_2, de modo que estas hemoglobinas no suministran O_2 adecuado a los tejidos periféricos. La hipoxia hística resultante lleva a **policitemia**, una concentración aumentada de eritrocitos.

Hemoglobina S

En la HbS, el aminoácido no polar valina ha remplazado al residuo de superficie polar Glu6 de la subunidad β, lo que genera un **"parche pegajoso"** *(sticky patch)* hidrofóbico sobre la superficie de la subunidad β tanto de la oxiHbS como de la desoxiHbS. Tanto la HbA como la HbS contienen un "parche pegajoso" complementario sobre sus superficies, que sólo queda expuesto en el estado T desoxigenado. De este modo, a Po_2 baja, la desoxiHbS puede polimerizarse para formar fibras insolubles largas. La unión de la desoxiHbA termina la polimerización de fibra, puesto que la HbA carece del segundo parche pegajoso necesario para unir otra molécula de Hb (fig. 6-12). Estas fibras helicoidales torcidas producen una deformación falciforme característica del eritrocito, lo que le hace vulnerable a lisis en los intersticios de los sinusoides esplénicos. También causan múltiples efectos clínicos secundarios. Una Po_2 baja, como la que ocurre a grandes altitudes, exacerba la tendencia a polimerizarse. Los tratamientos que están surgiendo para drepanocitosis comprenden inducir la expresión de HbF para inhibir la polimerización de HbS, trasplante de células madre y, en el futuro, terapia génica.

INFERENCIAS BIOMÉDICAS

Mioglobinuria

Después de lesión por aplastamiento masivo, la mioglobina liberada a partir de fibras musculares dañadas tiñe la orina de color rojo oscuro. Es posible detectar mioglobina en plasma después de un infarto de miocardio, pero la valoración de enzimas séricas (cap. 7) proporciona un índice más sensible de lesión miocárdica.

Anemias

Son reducciones del número de eritrocitos o de la hemoglobina en sangre y en ocasiones reflejan síntesis alterada de hemoglobina (p. ej., en la deficiencia de hierro; cap. 50) o producción alterada de eritrocitos (p. ej., en la deficiencia de ácido fólico o de vitamina B_{12}; cap. 44). El diagnóstico de anemias empieza con la medición espectroscópica de la concentración sanguínea de hemoglobina.

Talasemias

Son defectos genéticos que se producen por la falta parcial o total de una o más cadenas α o β de la hemoglobina. Se han identificado más

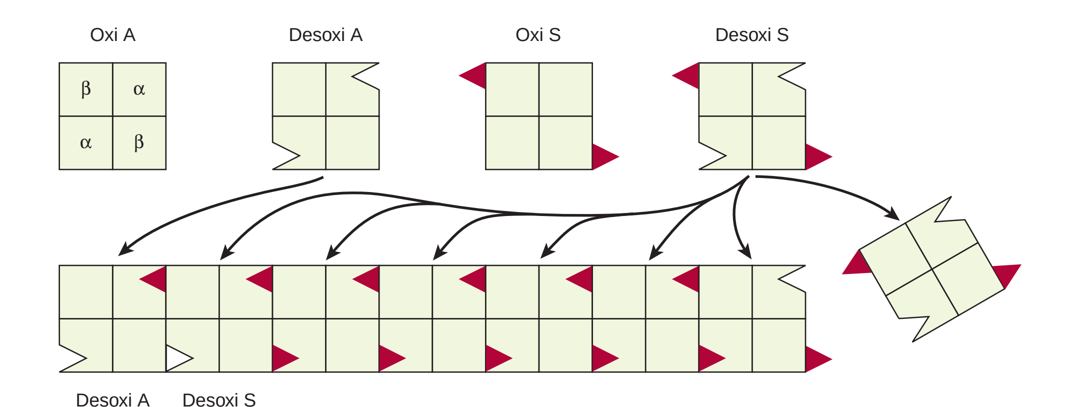


FIGURA 6-12 Representación del parche pegajoso (▲) sobre la hemoglobina S y su "receptor" (Δ) sobre la desoxihemoglobina A y la desoxihemoglobina S. Las superficies complementarias permiten que la desoxihemoglobina S se polimerice hacia una estructura fibrosa, pero la presencia de desoxihemoglobina A terminará la polimerización al no proporcionar parches pegajosos. (Modificado y reproducido, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry*, 4th ed. Freeman, 1995. Copyright © 1995 W. H. Freeman and Company.)

de 750 mutaciones diferentes, pero sólo tres son comunes. Es posible que ocurra afección de la cadena α (talasemia α) o la cadena β (talasemia β). Un número en superíndice indica si una subunidad falta por completo (α^0 o β^0) o si su síntesis está reducida (α^+ o β^+). Salvo por el trasplante de médula ósea, el tratamiento es sintomático.

Ciertas hemoglobinas mutantes se observan con frecuencia en muchas poblaciones, y un sujeto puede heredar más de un tipo. De este modo, los trastornos de la hemoglobina presentan un modelo complejo de fenotipos clínicos. El uso de sondas de DNA para su diagnóstico se considera en el capítulo 39.

Hemoglobina glucosilada (HbA_{1c})

Cuando la glucosa sanguínea entra a los eritrocitos, produce glucosilación del grupo ϵ-amino de residuos lisina y los amino terminales de la hemoglobina. La fracción de hemoglobina glucosilada, que por lo normal se ubica alrededor de 5%, es proporcional a la concentración de glucosa en la sangre. Dado que la vida media de un eritrocito es de unos 60 días, la concentración de HbA_{1c} refleja la concentración media de glucosa en sangre durante las seis a ocho semanas precedentes, de modo que la medición de HbA_{1c} proporciona valiosa información para el manejo de la diabetes mellitus.

RESUMEN

- La mioglobina es monomérica; la hemoglobina es un tetrámero de dos tipos de subunidad ($\alpha_2\beta_2$ en la HbA). Pese a tener estructuras primarias diferentes, la mioglobina y las subunidades de la hemoglobina tienen estructuras secundaria y terciaria casi idénticas.
- El hem, un tetrapirrol cíclico, un poco plegado, en esencia planar, tiene un Fe^{2+} central enlazado a los cuatro átomos de nitrógeno del hem, a la histidina F8 y, en la oxiMb y la oxiHb, también a O_2.
- La curva de unión a O_2 para la mioglobina es hiperbólica, pero para la hemoglobina es sigmoidea, una consecuencia de interacciones cooperativas en el tetrámero. La cooperatividad aumenta la capacidad de la hemoglobina tanto para cargar O_2 a la Po_2 de los pulmones, como para liberar O_2 a la Po_2 de los tejidos.
- Las afinidades relativas de diferentes hemoglobinas por el oxígeno se expresan como P_{50}, la Po_2 que las satura 50% con O_2. Las hemoglobinas se saturan a las presiones parciales de su órgano respiratorio respectivo, p. ej., el pulmón o la placenta.
- En el momento de la oxigenación de la hemoglobina, el hierro, la histidina F8 y residuos enlazados se mueven hacia el anillo hem. Los cambios de la conformación que acompañan a la oxigenación comprenden rotura de enlaces salinos y aflojamiento de la estructura cuaternaria, lo que facilita la unión de O_2 adicional.
- El 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) en la cavidad central de la desoxiHb forma puentes salinos con las subunidades β que estabilizan a la desoxiHb. En el momento de la oxigenación, la cavidad central se contrae, hay extrusión de BPG y la estructura cuaternaria cambia su conformación.
- La hemoglobina también funciona en el transporte de CO_2 y de protones desde los tejidos hacia los pulmones. La liberación de O_2 desde la oxiHb en los tejidos se acompaña de captación de protones debido a disminución de pK_a de residuos histidina.
- En la hemoglobina de células falciformes (HbS), la Val remplaza a la Glu β6 de la HbA, lo que crea un "parche pegajoso" que tiene un complemento sobre la desoxiHb (no así sobre la oxiHb). La desoxiHbS se polimeriza a concentraciones de O_2 bajas, lo que forma fibras que producen deformación falciforme de los eritrocitos.
- Las talasemias α y β son anemias que sobrevienen por producción reducida de subunidades α y β de la HbA, respectivamente.

REFERENCIAS

Bettati S et al: Allosteric mechanism of haemoglobin: Rupture of salt-bridges raises the oxygen a nity of the T-structure. J Mol Biol 1998;281:581.

Frauenfelder H, McMahon BH, Fenimore PW: Myoglobin: e hydrogen atom of biology and a paradigm of complexity. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8615.

Hardison RC et al: Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server. Hemoglobin 2001;25:183.

Lukin JA, Ho C: e structure-function relationship of hemoglobin in solution at atomic resolution. Chem Rev 2004;104:1219.

Ordway GA, Garry DJ: Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. J Exp Biol 2004;207:3441.

Persons DA: Update on gene therapy for hemoglobin disorders. Curr Opin Mol er 2003;5:508.

Schrier SL, Angelucci E: New strategies in the treatment of the thalassemias. Annu Rev Med 2005;56:157.

Steinberg MH, Brugnara C: Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle-cell disease. Annu Rev Med 2003;54:89.

Weatherall DJ, Clegg JD: *e alassemia Syndromes*. Blackwell Science. 2001.

Weatherall DJ et al: e hemoglobinopathies. In: *e Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed., Scriver CR et al (editors). McGraw-Hill, 2000;4571–4635.

Weatherall DJ et al: Inherited disorders of hemoglobin. In: *Disease Control Priorities in Developing Countries*, Jamison D et al (editors). Oxford University Press and the World Bank, 2006;663–680.

CAPÍTULO 7

Enzimas: mecanismo de acción

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las enzimas son polímeros biológicos que catalizan las reacciones químicas que hacen posible la vida tal como la conocemos. La presencia y el mantenimiento de un conjunto completo y equilibrado de enzimas son esenciales para la desintegración de nutrientes a fin de que proporcionen energía y bloques de construcción químicos; el montaje de esos bloques de construcción hacia proteínas, DNA, membranas, células y tejidos, y la utilización de energía para impulsar la motilidad celular, la función neural y la contracción muscular. Con la excepción de las moléculas de RNA catalíticas, o ribozimas, las enzimas son proteínas. La capacidad para valorar la actividad de enzimas específicas en la sangre, otros líquidos hísticos, o extractos celulares, ayuda en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedad. Las deficiencias de la cantidad o la actividad catalítica de enzimas clave pueden sobrevenir por defectos genéticos, déficit nutricionales o toxinas. Las enzimas defectuosas pueden producirse por mutaciones genéticas o infección por virus o bacterias patógenos (p. ej., *Vibrio cholerae*). Los científicos médicos abordan desequilibrios de la actividad de enzimas al utilizar fármacos para inhibir enzimas específicas, y están investigando la terapia génica como un medio para corregir déficit de la concentración de enzimas o la función de las mismas.

Además de servir como los catalizadores para todos los procesos metabólicos, su impresionante actividad catalítica, especificidad para sustrato y estereoespecificidad permiten a las enzimas desempeñar funciones clave en otros procesos relacionados con la salud y el bienestar de seres humanos. La estereoespecificidad absoluta de enzimas es en particular valiosa para uso como catalizadores solubles o inmovilizados para reacciones específicas en la síntesis de un fármaco o antibiótico. Las enzimas proteolíticas aumentan la capacidad de los detergentes para eliminar suciedad y colorantes. Las enzimas tienen importancia en la producción de productos alimenticios o el aumento del valor nutriente de los mismos tanto para seres humanos como para animales. Por ejemplo, la proteasa quimosina (renina) se utiliza en la producción de quesos, mientras que la lactasa es empleada para eliminar lactosa de la leche y beneficiar a quienes sufren intolerancia a la lactosa por deficiencia de esta enzima hidrolítica (cap. 43).

LAS ENZIMAS SON CATALIZADORES EFICACES Y MUY ESPECÍFICOS

Las enzimas que catalizan la conversión de uno o más compuestos **(sustratos)** hacia uno o más compuestos diferentes **(productos)** aumentan los índices de la reacción no catalizada correspondiente por factores de al menos 10^6. Al igual que todos los catalizadores, las enzimas no se consumen ni se alteran de manera permanente como consecuencia de su participación en una reacción.

Además de ser muy eficientes, las enzimas también son catalizadores en extremo selectivos. Al contrario de casi todos los catalizadores usados en química sintética, las enzimas son específicas tanto para el tipo de reacción catalizada como para un sustrato único o un pequeño conjunto de sustratos estrechamente relacionados. Las enzimas también son catalizadores estereoespecíficos y de manera típica catalizan reacciones de sólo un estereoisómero de un compuesto dado (p. ej., azúcares D, mas no L; aminoácidos de L pero no D). Dado que se unen a sustratos por medio de al menos "tres puntos de fijación", las enzimas incluso pueden convertir sustratos no quirales en productos quirales. En la figura 7-1 se ilustra por qué la reducción catalizada por enzima del sustrato no quiral piruvato produce L-lactato (en lugar de una mezcla racémica de D- y L-lactato). La especificidad extrema de los catalíticos enzima confiere a las células vivas la capacidad para conducir de manera simultánea y controlar de modo independiente una amplia gama de procesos químicos.

LAS ENZIMAS SE CLASIFICAN POR EL TIPO DE REACCIÓN

Los nombres de uso frecuente para casi todas las enzimas describen el tipo de reacción catalizada, seguido por el sufijo *-asa*. Así, por ejemplo, las deshidrogen*asas* eliminan átomos de hidrógeno, las prote*asas* hidrolizan proteínas y las isomer*asas* catalizan reordenamientos de la configuración. Los modificadores pueden preceder o seguir al nombre para indicar el sustrato (*xantina* oxidasa), la fuente de la enzima (ribonucleasa *pancreática*), su regulación (lipasa *sensible a hormona*) o una característica de su mecanismo de acción (*cisteína* proteasa). Cuando es necesario, se añaden designaciones alfanuméricas para identificar múltiples formas de una enzima (p. ej., RNA polimerasa *III;* proteína cinasa *C*β).

A fin de resolver estas dificultades, la *International Union of Biochemists* (IUB) creó un sistema de nomenclatura de enzimas sin ambigüedad en el cual cada enzima tiene un nombre y número de código singular que identifican el tipo de reacción catalizada y los sustratos comprendidos; así, las enzimas se agrupan en seis clases:

1. **Oxidorreductasas** (catalizan oxidaciones y reducciones).
2. **Transferasas** (catalizan la transferencia de porciones, como grupos glucosilo, metilo o fosforilo).

3. **Hidrolasas** (catalizan la división *hidrolítica* de C—C, C—O, C—N y otros enlaces).
4. **Liasas** (catalizan la división de C—C, C—O, C—N y otros enlaces mediante *eliminación de átomo*, dejando dobles enlaces).
5. **Isomerasas** (catalizan cambios geométricos o estructurales dentro de una molécula).
6. **Ligasas** (catalizan la unión de dos moléculas acopladas a la hidrólisis de ATP).

A pesar de la claridad del sistema de la IUB, los nombres son largos y hasta cierto punto engorrosos, de modo que en general se sigue haciendo referencia a las enzimas por su nombre tradicional, aunque a veces ambiguo. La designación de la IUB para la hexocinasa ilustra tanto la claridad de su sistema como sus complejidades: el nombre que la IUB da a la hexocinasa es ATP:D-hexosa 6-fosfotransferasa E.C.2.7.1.1; el cual identifica a la hexocinasa como un miembro de la clase 2 (transferasas), subclase 7 (transferencia de un grupo fosforilo), subclase 1 (el alcohol es el aceptor del fosforilo), y "hexosa-6" indica que el alcohol fosforilado está en el carbono seis de una hexosa. Sin embargo, se le sigue llamando hexocinasa.

LOS GRUPOS PROSTÉTICOS, LOS COFACTORES Y LAS COENZIMAS TIENEN FUNCIONES IMPORTANTES EN LA CATÁLISIS

Muchas enzimas contienen pequeñas moléculas no proteínicas y iones metálicos que participan de manera directa en la unión de sustrato o catálisis. Denominados **grupos prostéticos**, **cofactores** y **coenzimas**, éstos extienden el repertorio de capacidades catalíticas más allá de las proporcionadas por el número limitado de grupos funcionales presentes en las cadenas laterales aminoacilo de péptidos.

Los grupos prostéticos están estrechamente integrados en la estructura de una enzima

Los grupos prostéticos se distinguen por su incorporación estrecha y estable hacia la estructura de una proteína mediante fuerzas covalentes o no covalentes. Los ejemplos son fosfato de piridoxal, flavina mononucleótido (FMN), flavina adenina dinucleótido (FAD), pirofosfato de tiamina, biotina y los iones metálicos de Co, Cu, Mg, Mn y Zn. Los metales son los grupos prostéticos más comunes. Cerca de un tercio de todas las enzimas que contienen iones metálicos unidos de manera estrecha se llama **metaloenzimas**. Los iones metálicos que participan en reacciones redox por lo general forman complejos con grupos prostéticos como el hem (cap. 6) o agrupaciones de hierro-azufre (cap. 12). Los metales también pueden facilitar la unión y orientación de sustratos, la formación de enlaces covalentes con intermediarios de reacción (CO^{2+} en la coenzima B_{12}), o interactuar con sustratos para hacerlos más **electrofílicos** (con pocos electrones) o **nucleofílicos** (ricos en electrones).

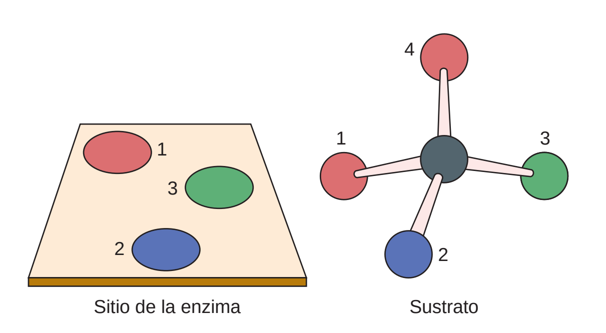


FIGURA 7-1 Representación planar de la "fijación de tres puntos" de un sustrato al sitio activo de una enzima. Aunque los átomos 1 y 4 son idénticos, una vez que los átomos 2 y 3 se unen a sus sitios complementarios en la enzima, sólo el átomo 1 puede unirse. De este modo, una vez unidos a una enzima, átomos al parecer idénticos pueden ser distinguibles, lo que permite un cambio químico estereoespecífico.

Los cofactores se asocian de manera reversible con enzimas o sustratos

Los **cofactores** desempeñan funciones similares a las de grupos prostéticos, pero se unen de una manera transitoria y disociable a la enzima o a un sustrato como ATP. Por ende, al contrario de los grupos prostéticos asociados de manera estable, para que ocurra catálisis debe haber cofactores en el medio que rodea a la enzima. Los cofactores más comunes también son iones metálicos. Las enzimas que requieren un cofactor ion metálico se llaman **enzimas activadas por metal** para distinguirlas de las **metaloenzimas** para las cuales los iones metálicos sirven como grupos prostéticos.

Las coenzimas sirven como transbordadores de sustrato

Las **coenzimas** sirven como transbordadores —o agentes de transferencia de grupo— reciclables, que transportan muchos sustratos desde su punto de generación hacia su punto de utilización. La asociación con la coenzima también estabiliza sustratos como átomos de hidrógeno o iones hidrido que son inestables en el ambiente acuoso de la célula. Otras porciones químicas transportadas por coenzimas son grupos metilo (folatos), grupos acilo (coenzima A) y oligosacáridos (dolicol).

Muchas coenzimas, cofactores y grupos prostéticos son derivados de vitamina B

Las vitaminas B hidrosolubles proporcionan componentes importantes de muchas coenzimas. Varias coenzimas contienen, además, las porciones adenina, ribosa y fosforilo de monofosfato de adenosina (AMP) o difosfato de adenosina (ADP) (fig. 7-2). La nicotinamida es un componente de las coenzimas redox nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), mientras que la riboflavina es un componente de las coenzimas redox FMN y FAD. El **ácido pantoténico** es un componente de la coenzima A acarreadora de grupo acilo. Como su pirofosfato, la **tiamina** participa en la descarboxilación de cetoácidos α, y las coenzimas **ácido fólico** y **cobalamina** funcionan en el metabolismo de un carbono.

LA CATÁLISIS OCURRE EN EL SITIO ACTIVO

Una importante información de principios del siglo xx acerca de la catálisis enzimática provino de la observación de que la presencia de

FIGURA 7-2 Estructura del NAD^+ y $NADP^+$. Para NAD^+, R = H; para $NADP^+$, R = PO_3^{2-}.

sustratos hace a las enzimas más resistentes a los efectos desnaturalizantes de las temperaturas altas. Dicha observación llevó a Emil Fischer a proponer que las enzimas y sus sustratos interactúan para formar un complejo de enzima-sustrato (ES) cuya estabilidad térmica fue mayor que la de la enzima en sí. Este conocimiento impactó de manera profunda sobre la comprensión tanto de la naturaleza química como de la conducta cinética (cap. 8) de la catálisis enzimática.

Fischer razonó que la especificidad en extremo alta con la cual las enzimas reconocen sus sustratos cuando forman un complejo ES era análoga a la manera en la cual una cerradura mecánica distingue la llave apropiada. Esta "cerradura" enzimática recibe el nombre de **sitio activo**. En casi todas las enzimas dicho sitio adopta la forma de una hendidura o bolsa sobre la superficie de la enzima (figs. 5-6 y 5-8) o, para algunas enzimas multiméricas, en la interfaz entre subunidades. Como su nombre lo indica, el sitio activo es mucho más que tan sólo un sitio de reconocimiento para sustratos que se unen. Proporciona un ambiente tridimensional que protege a los sustratos contra solvente y facilita la catálisis. También se une a cualesquiera cofactores y grupos prostéticos que la catálisis pudiera requerir. Dentro del sitio activo, las moléculas de sustrato están alineadas en estrecha proximidad y en orientación óptima a los grupos funcionales de residuos peptidilo aminoacilo, cofactores y grupos prostéticos que se encargan de catalizar su transformación química hacia productos (fig. 7-3).

LAS ENZIMAS EMPLEAN MÚLTIPLES MECANISMOS PARA FACILITAR LA CATÁLISIS

Las enzimas usan diversas combinaciones de cuatro mecanismos generales para lograr notorio aumento catalítico de los índices de reacciones químicas.

FIGURA 7-3 Representación bidimensional de un sustrato dipéptido, glisil-tirosina, unido dentro del sitio activo de la carboxipeptidasa A.

Catálisis por proximidad

Para que las moléculas reaccionen, deben acercarse hasta ubicarse dentro de la distancia formadora de enlace de otra. Mientras más alta sea su concentración, con mayor frecuencia se encontrarán una con otra y mayor será el índice de su reacción. Cuando una enzima se une a moléculas de sustrato en su sitio activo, crea una región de concentración local alta de sustrato. Este ambiente también orienta las moléculas de sustrato de manera espacial en una posición ideal para que interactúen, lo que origina aumentos del índice de al menos mil veces.

Catálisis acidobásica

Los grupos funcionales ionizables de cadenas laterales aminoacilo y (cuando están presentes) de grupos prostéticos, contribuyen a la catálisis al interactuar como ácidos o bases. La catálisis acidobásica puede ser específica o general; por "específica" se alude a protones (H_3O^+) o iones OH^-. En la **catálisis específica para ácido** o **específica para base**, el índice de reacción es sensible a cambios de la concentración de protones, pero independiente de las concentraciones de otros ácidos (donadores de protón) o bases (aceptores de protón) presentes en solución o en el sitio activo. Se dice que las reacciones cuyos índices muestran capacidad de respuesta a *todos* los ácidos o bases presentes, están sujetas a **catálisis por ácido general** o por **base general**.

Catálisis por tensión

Las enzimas que catalizan reacciones -*líticas* que comprenden la rotura de un enlace covalente típicamente se unen a sus sustratos en una conformación muy desfavorable para el enlace que sufrirá la división. Tal conformación imita la del **intermediario de estado de transición**, especie transitoria que representa la transición o el punto medio en la transformación de sustratos en productos. La tensión resultante estira o deforma el enlace al cual se dirige, esto lo debilita y lo hace más vulnerable a división. Linus Pauling, laureado con el premio Nobel, fue el primero en sugerir una función para la estabi-

$$E{-}CHO \xrightarrow{Ala} E\begin{smallmatrix}CHO\\Ala\end{smallmatrix} \longrightarrow E\begin{smallmatrix}CH_2NH_2\\Pir\end{smallmatrix} \xrightarrow{Pir} E{-}CH_2NH_2 \xrightarrow{CG} E\begin{smallmatrix}CH_2NH_2\\CG\end{smallmatrix} \longrightarrow E\begin{smallmatrix}CHO\\Glu\end{smallmatrix} \xrightarrow{Glu} E{-}CHO$$

FIGURA 7-4 Mecanismo de ping-pong para transaminación. E—CHO y E—CH_2NH_2 representan los complejos de enzima-piridoxal fosfato y enzima-piridoxamina, respectivamente. (Ala, alanina; Pir, piruvato; CG, α-cetoglutarato; Glu, glutamato.)

lización de estado de transición como un mecanismo general mediante el cual las enzimas aceleran los índices de reacciones químicas. Los químicos a menudo aprovechan el conocimiento del estado de transición de una reacción catalizada por enzima para diseñar y crear inhibidores de enzima más eficaces, llamados **análogos de estado de transición**, como farmacóforos potenciales.

Catálisis covalente

El proceso de **catálisis covalente** comprende la formación de un enlace covalente entre la enzima y uno o más sustratos. La enzima modificada después se convierte en un reactivo. La catálisis covalente introduce una nueva vía de reacción cuya energía de activación es más baja —y, por ende, es más rápida— que la vía de reacción en solución homogénea. Sin embargo, la modificación química de la enzima es transitoria; en el momento en que se completa la reacción, la enzima vuelve a su estado no modificado original. De este modo, su función permanece catalítica. La catálisis covalente se observa con particular frecuencia entre enzimas que catalizan reacciones de transferencia de grupo. Los residuos sobre la enzima que participa en la catálisis covalente por lo general son cisteína o serina y, en ocasiones, histidina. La catálisis covalente a menudo sigue un mecanismo de ping-pong: uno en donde el primer sustrato es unido y su producto se libera antes de la unión del segundo sustrato (fig. 7-4).

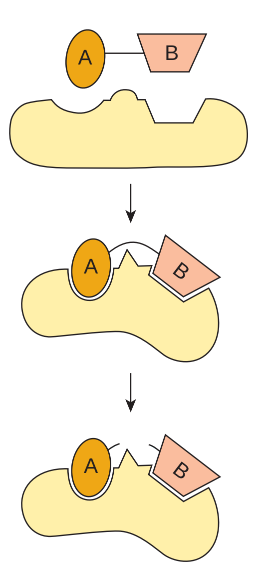


FIGURA 7-5 Representación bidimensional del modelo de adaptación inducida de Koshland del sitio activo de una liasa. La unión del sustrato A—B induce cambios conformacionales en la enzima que alinea residuos catalíticos que participan en la catálisis y tensa el enlace entre A y B, lo que facilita su división.

LOS SUSTRATOS INDUCEN CAMBIOS CONFORMACIONALES EN ENZIMAS

Si bien el "modelo de cerradura y llave" de Fischer permitió comprender la especificidad extrema de interacciones entre enzima y sustrato, la rigidez implícita del sitio activo de la enzima no explicó los cambios dinámicos que acompañan a la catálisis. Esta desventaja fue abordada por el modelo de **adaptación inducida** de Daniel Koshland, que declara que cuando los sustratos se aproximan y se unen a una enzima, inducen un cambio conformacional, una modificación análoga a colocar una mano (sustrato) dentro de un guante (enzima) (fig. 7-5). Un corolario es que la enzima induce cambios recíprocos en sus sustratos y aprovecha la energía de unión para facilitar la transformación de sustratos en productos. El modelo de adaptación inducida se ha confirmado de manera amplia por medio de estudios biofísicos de movimiento de enzimas durante unión a sustrato.

LA PROTEASA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) ILUSTRA LA CATÁLISIS ACIDOBÁSICA

Las enzimas de la **familia de la proteasa aspártica**, que incluye la enzima digestiva pepsina, las catepsinas lisosómicas y la proteasa producida por el VIH, comparten un mecanismo catalítico común. La catálisis comprende dos residuos aspartilo conservados, que actúan como catalíticos acidobásicos. En la primera etapa de la reacción, un aspartato que está funcionando como una base general (Asp X, fig. 7-6) extrae un protón de una molécula de agua, lo que la hace más nucleofílica. El nucleófilo resultante después ataca al carbono carbonilo electrofílico del enlace peptídico establecido como objetivo para hidrólisis, lo que forma un **intermediario de estado de transición tetraédrico**. A continuación, un segundo aspartato (Asp Y, fig. 7-6) facilita la descomposición de este intermediario tetraédrico al donar un protón al grupo amino producido por la rotura del enlace peptídico. Los dos diferentes aspartatos de sitio activo pueden actuar de manera simultánea como una base general o como un ácido general porque su ambiente inmediato favorece la ionización de uno, no así del otro.

LA QUIMOTRIPSINA Y LA FRUCTOSA-2,6-BISFOSFATASA ILUSTRAN LA CATÁLISIS COVALENTE

Quimotripsina

Si bien la catálisis por proteasas aspárticas involucra el ataque hidrolítico directo de agua sobre un enlace peptídico, la catálisis por la

FIGURA 7-6 Mecanismo para catálisis mediante una aspártico proteasa como la proteasa de VIH. Las flechas curvas indican direcciones de movimiento de electrón. Aspartato X actúa como una base para activar una molécula de agua al sustraer un protón. La molécula de agua activada ataca el enlace peptídico, lo que forma un intermediario tetraédrico transitorio. El aspartato Y actúa como un ácido para facilitar el rompimiento del intermediario tetraédrico y la liberación de los productos de división al donar un protón al grupo amino recién formado. El transbordo subsiguiente del protón sobre Asp X a Asp Y restituye la proteasa a su estado inicial.

FIGURA 7-7 Catálisis mediante quimotripsina. El sistema de transmisión de carga elimina un protón de Ser 195, lo que la hace un nucleófilo más potente. La Ser 195 activada ataca el enlace peptídico y forma un intermediario tetraédrico transitorio. La liberación del péptido amino terminal se facilita por donación de un protón al grupo amino recién formado por His 57 del sistema de transmisión de carga, lo que da un intermediario acilo-Ser 195. His 57 y Asp 102 colaboran para activar una molécula de agua, que ataca el acilo-Ser 195, lo que forma un segundo intermediario tetraédrico. El sistema de transmisión de carga dona un protón a Ser 195, lo que facilita el rompimiento de intermediario tetraédrico para liberar el péptido carboxilo terminal .

serina proteasa quimotripsina comprende la formación previa de un intermediario de enzima acilo covalente. Un residuo serilo muy reactivo, la serina 195, participa en una red de transmisión de carga con histidina 57 y aspartato 102. Muy separados en la estructura primaria, en el sitio activo estos residuos están dentro de la distancia formadora de enlace de otro. Alineados en el orden Asp 102-His 57-Ser 195, constituyen una "red de transmisión de carga" que funciona como un "transbordador de protón".

La unión de sustrato inicia desviaciones de protón que, en efecto, transfieren el protón hidroxilo de Ser 195 a Asp 102 (fig. 7-7). La nucleofilicidad aumentada del oxígeno serilo facilita su ataque sobre el carbono carbonilo del enlace peptídico del sustrato, lo que forma un intermediario de acilo-enzima covalente. El protón en Asp 102 a continuación se transborda a través de His 57 hacia el grupo amino que es liberado cuando el enlace peptídico se divide. La porción del péptido original con un grupo amino libre después deja el sitio activo y es remplazada por una molécula de agua. La red de transmisión de carga ahora activa la molécula de agua al extraer un protón a través de His 57 hacia Asp 102. El ion hidroxilo resultante ataca el intermediario acilo-enzima y un transbordador de protón inverso

regresa un protón a Ser 195, lo que restituye su estado original. Si bien se modifica durante el proceso de catálisis, la quimotripsina surge sin cambios en el momento en que se completa la reacción. La tripsina y la elastasa emplean un mecanismo catalítico similar, pero los números de los residuos en sus transbordadores de protón Ser-His-Asp difieren.

Fructosa-2,6-bisfosfatasa

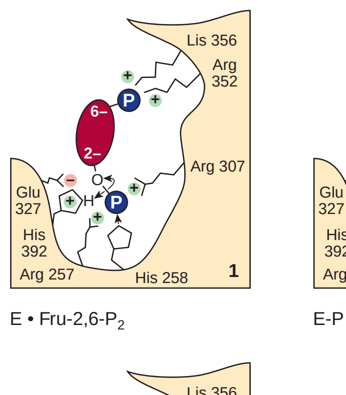
Es una enzima reguladora de la gluconeogénesis (cap. 20) y cataliza la liberación hidrolítica del fosfato en el carbono 2 de la fructosa-2,6-bisfosfato. En la figura 7-8 se ilustran las funciones de siete residuos de sitio activo. La catálisis comprende una "tríada catalítica" de un residuo Glu y dos residuos His, y un intermediario fosfohistidilo covalente.

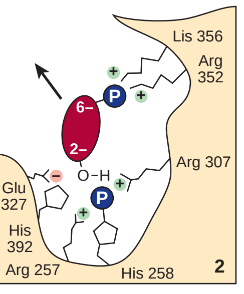
LOS RESIDUOS CATALÍTICOS ESTÁN MUY CONSERVADOS

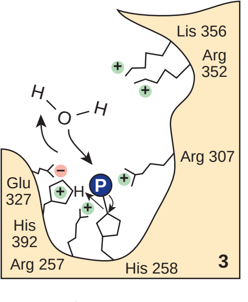
Los miembros de una familia de enzimas como las aspártico o serina proteasas emplean un mecanismo similar para catalizar un tipo de reacción común, pero actúan sobre diferentes sustratos. Casi todas las familias de enzimas surgieron por medio de eventos de duplicación de gen que crean una segunda copia del gen que codifica para una enzima particular. Las proteínas codificadas por los dos genes después pueden evolucionar de manera independiente para reconocer distintos sustratos, lo que da por resultado, por ejemplo, quimotripsina, que desdobla enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos hidrofóbicos grandes, y tripsina, que desdobla enlaces peptídicos en el lado carboxilo terminal de aminoácidos básicos. Se dice que las proteínas que divergieron desde un ancestro común son **homólogas** entre sí. La ascendencia común de enzimas puede inferirse a partir de la presencia de aminoácidos específicos en la misma posición en cada miembro de la familia. Se dice que estos residuos son **residuos conservados**. En el cuadro 7-1 se ilustra la conservación estructural primaria de dos componentes de la red de transmisión de carga para varias serina proteasas. Entre los residuos más conservados figuran los que participan de manera directa en la catálisis.

LAS ISOZIMAS SON FORMAS DE ENZIMA DISTINTAS QUE CATALIZAN LA MISMA REACCIÓN

Los organismos superiores a menudo elaboran varias versiones de una enzima dada distintas desde el punto de vista físico, cada una de las cuales cataliza la misma reacción. Al igual que los miembros de otras familias de proteína, estos catalíticos de proteína o **isozimas** surgen por medio de duplicación de gen. Las isozimas pueden mostrar diferencias sutiles de propiedades como sensibilidad a factores reguladores particulares (cap. 9) o afinidad de sustrato (p. ej., hexocinasa y glucocinasa) que las adaptan a tejidos o circunstancias específicos. Algunas isozimas también pueden aumentar la supervivencia al proporcionar una copia de "respaldo" de una enzima esencial.







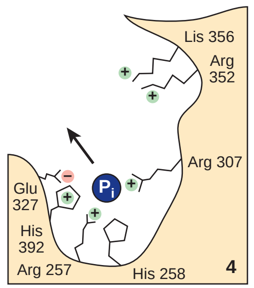


FIGURA 7-8 Catálisis mediante fructosa-2,6-bisfosfatasa. **1)** Lis 356 y Arg 257, 307 y 352 estabilizan la carga negativa cuádruple del sustrato mediante interacciones entre una carga y otra. Glu 327 estabiliza la carga positiva sobre His 392. **2)** El nucleófilo His 392 ataca el grupo fosforilo C-2 y lo transfiere hacia His 258, lo que forma un intermediario fosforilo-enzima. La fructosa-6-fosfato abandona la enzima. **3)** Ataque nucleofílico por una molécula de agua, posiblemente asistido por Glu 327 que actúa como una base, forma fosfato inorgánico. **4)** Se libera ortofosfato inorgánico a partir de Arg 257 y Arg 307. (Reproducido, con autorización, de Pilkis SJ, et al.: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: A metabolic signaling enzyme. Annu Rev Biochem 1995;64:799. © 1995 by Annual Reviews, www.annualreviews.org. Reimpreso con autorización.)

LA ACTIVIDAD CATALÍTICA DE ENZIMAS FACILITA SU DETECCIÓN

Las cantidades relativamente pequeñas de enzimas presentes en células complican la determinación de su presencia y concentración; sin embargo, la amplificación conferida por su capacidad para transformar con rapidez miles de moléculas de un sustrato específico en producto confiere a cada enzima la capacidad para revelar su presencia. Las valoraciones de la actividad catalítica de enzimas a menudo se usan en laboratorios de investigación y clínicos. En condiciones apropiadas (cap. 8), el índice de la reacción catalítica que se está monitoreando es proporcional a la cantidad de enzima presente, lo cual permite inferir su concentración.

Enzimología de molécula única

La sensibilidad limitada de las valoraciones enzimáticas tradicionales exige el uso de un grupo grande —o conjunto— de moléculas de enzima para producir cantidades de producto medibles. Los datos obtenidos de este modo reflejan la capacidad catalítica promedio de moléculas individuales. Avances recientes en **nanotecnología** han hecho posible observar —por lo general, mediante microscopia de

CUADRO 7-1 Secuencias de aminoácidos en la vecindad de los sitios catalíticos de varias proteasas bovinas

Enzima	Secuencia alrededor de la serina Ⓢ															Secuencia alrededor de la histidina Ⓗ											
Tripsina	D	S	C	Q	D	G	Ⓢ	G	G	P	V	V	C	S	G	K	V	V	S	A	A	Ⓗ	C	Y	K	S	G
Quimotripsina A	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	K	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	G	G	V	T	T
Quimotripsina B	S	S	C	M	G	D	Ⓢ	G	G	P	L	V	C	Q	K	N	V	V	T	A	A	Ⓗ	C	G	V	T	T
Trombina	D	A	C	E	G	D	Ⓢ	G	G	P	F	V	M	K	S	P	V	L	T	A	A	Ⓗ	C	L	L	Y	P

Nota: Las regiones mostradas son las que están a ambos lados de los residuos serilo (S) e histidilo (H) del sitio catalítico.

fluorescencia— catálisis por enzima y molécula de sustrato individuales. En consecuencia, los científicos ahora tienen la posibilidad de medir el índice de eventos catalíticos únicos y, en ocasiones, los pasos individuales en la catálisis por medio de un proceso llamado **enzimología de molécula única** (fig. 7-9).

El descubrimiento de fármacos requiere valoraciones enzimáticas idóneas para investigación de "alta capacidad de procesamiento"

Las enzimas constituyen una de las clases primarias de biomoléculas dirigidas para la creación de fármacos y otros agentes terapéuticos; por ejemplo, muchos antibióticos inhiben enzimas que son singulares para microbios patógenos. El descubrimiento de nuevos fármacos se facilita mucho cuando es posible valorar un gran número de farmacóforos potenciales de una manera rápida y automatizada, proceso denominado **investigación de alta capacidad de procesamiento**. En esta última se aprovechan avances recientes en robótica, óptica, procesamiento de datos y microfluídica para efectuar y analizar muchos miles de valoraciones simultáneas de la actividad de una enzima dada. En los dispositivos de investigación de alta capacidad de procesamiento de uso más frecuente se emplean volúmenes de 10 a 100 μl en placas de plástico con 96, 384 o 1 536 pozos, y equipo por completo automatizado capaz de surtir sustratos, coenzimas, enzimas e inhibidores potenciales en una multiplicidad de combinaciones y concentraciones. La investigación de alta capacidad de procesamiento es ideal para analizar los muchos productos de **química combinacional**, la síntesis simultánea de grandes bibliotecas de compuestos químicos que contienen todas las combinaciones posibles de un conjunto de precursores químicos. Las valoraciones enzimáticas que producen un producto cromogénico o fluorescente son ideales, puesto que los detectores ópticos se elaboran con facilidad mediante procedimientos de ingeniería para permitir el análisis rápido de múltiples muestras. En la actualidad, el equipo complejo requerido para números en verdad grandes de valoraciones sólo está disponible en casas farmacéuticas, laboratorios patrocinados por gobiernos, y universidades de investigación. Su principal uso es el análisis de compuestos inhibitorios con potencial final para uso como fármacos (cap. 8).

Inmunoanálisis ligado a enzima

Es factible explotar la sensibilidad de las valoraciones enzimáticas con el fin de detectar proteínas que carecen de actividad catalítica. En el **análisis inmunosorbente ligado a enzima** (ELISA) se usan anticuerpos enlazados de manera covalente a una "enzima reportera" como la fosfatasa alcalina o la peroxidasa de rábano picante

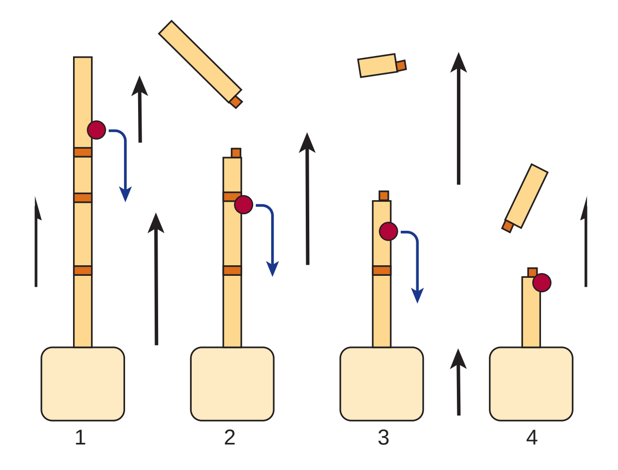


FIGURA 7-9 Observación directa de eventos de división de DNA único catalizados mediante una endonucleasa de restricción. Moléculas de DNA inmovilizadas a cuentas (amarillo claro) se colocan en un chorro de amortiguador que fluye (flechas negras), lo que hace que adopten una conformación extendida. La división en uno de los sitios de restricción (anaranjado) por una endonucleasa lleva a un acortamiento de la molécula de DNA, que puede observarse de manera directa en un microscopio porque las bases de nucleótido en el DNA son fluorescentes. Aunque la endonucleasa (rojo) no muestra fluorescencia y, por ende, es invisible, la manera progresiva en la cual se acorta la molécula de DNA (1 → 4) revela que la endonucleasa se une al extremo libre de la molécula de DNA y se mueve a lo largo de ella de un sitio a otro.

cuyos productos se detectan con facilidad, por lo general mediante la absorbancia de luz o por medio de fluorescencia. El suero u otras muestras biológicas que serán analizadas son colocados en una placa de microtitulación de plástico, donde las proteínas se adhieren a la superficie de plástico y quedan inmovilizadas. A continuación, cualesquiera áreas absorbentes restantes del pozo se "bloquean" al añadir una proteína no antigénica, como albúmina de suero bovino. Entonces se añade una solución de anticuerpo enlazado de manera covalente a una enzima reportera. Los anticuerpos se adhieren al antígeno inmovilizado y quedan inmovilizados. Después se eliminan mediante lavado las moléculas de anticuerpo libres excesivas. A continuación se determinan la presencia y cantidad de anticuerpo unido al añadir el sustrato para la enzima reportera.

Las deshidrogenasas dependientes de $NAD(P)^+$ son valoradas de manera espectrofotométrica

Las propiedades fisicoquímicas de los reactivos en una reacción catalizada por enzima dictan las opciones para la valoración de la

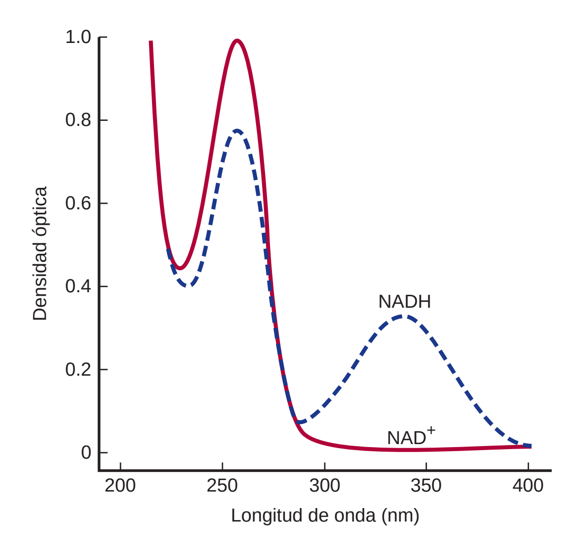


FIGURA 7-10 Espectros de absorción de NAD^+ y NADH. Las densidades son para una solución de 44 mg/L en una célula con una trayectoria de luz de 1 cm. El $NADP^+$ y NADPH tienen espectros análogos a los del NAD^+ y NADH, respectivamente.

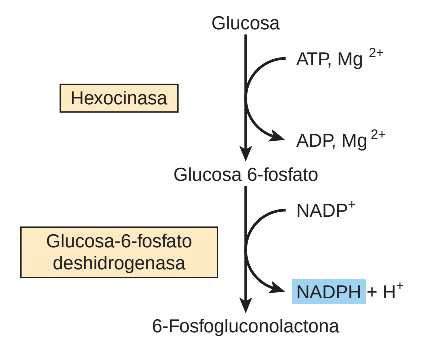


FIGURA 7-11 Valoración enzimática acoplada para la actividad de hexocinasa. La producción de glucosa-6-fosfato mediante la hexocinasa está acoplada a la oxidación de este producto por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en presencia de enzima añadida y $NADP^+$. Cuando hay un exceso de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el índice de formación de NADPH, que puede medirse a 340 nm, está regido por el índice de formación de glucosa-6-fosfato por la hexocinasa.

actividad enzimática. En las valoraciones espectrofotométricas se explota la capacidad de un sustrato o producto para absorber luz. Las coenzimas reducidas NADH y NADPH, escritas como NAD(P)H, absorben luz a una longitud de onda de 340 nm, no así sus formas oxidadas $NAD(P)^+$ (fig. 7-10). Por ende, cuando el $NAD(P)^+$ se reduce, la absorbancia a 340 nm aumenta en proporción con —y a un índice determinado por— la cantidad de NAD(P)H producida. Por el contrario, para una deshidrogenasa que cataliza la oxidación de NAD(P)H, se observará un decremento de la absorbancia a 340 nm. En cada caso, el índice de cambio de la densidad óptica a 340 nm será proporcional a la cantidad de enzima presente.

Muchas enzimas son valoradas mediante acoplamiento a una deshidrogenasa

Suele ser más difícil de efectuar la valoración de enzimas cuyas reacciones no se acompañan de un cambio de la absorbancia o de la fluorescencia. En ocasiones es posible transformar el producto o el sustrato restante en un compuesto que se detecta con mayor facilidad. En otros casos, antes de la medición, el producto de la reacción quizá tenga que separarse del sustrato que no ha reaccionado. Una estrategia alternativa es crear un sustrato sintético cuyo producto absorbe luz o muestra fluorescencia. El *p*-nitrofenilo fosfato, por ejemplo, es un sustrato artificial para ciertas fosfatasas y para quimotripsina, que no absorbe luz visible; sin embargo, después de la hidrólisis, el anión *p*-nitrofenilato resultante absorbe luz a 419 nm.

Otro método bastante común es emplear una valoración “acoplada” (fig. 7-11); por lo común una deshidrogenasa cuyo sustrato es el producto de la enzima de interés se añade en exceso catalítico. El índice de aparición o desaparición de NAD(P)H depende entonces del índice de la reacción enzimática a la cual se ha acoplado la deshidrogenasa.

EL ANÁLISIS DE CIERTAS ENZIMAS AYUDA AL DIAGNÓSTICO

El análisis de enzimas en el plasma sanguíneo ha desempeñado una función fundamental en el diagnóstico de varios procesos morbosos. Muchas enzimas son constituyentes funcionales de la sangre; entre algunos ejemplos están seudocolinesterasa, lipoproteína lipasa, así como componentes de la cascada de eventos en la coagulación de la sangre y la disolución de coágulo. Otras enzimas se liberan hacia el plasma después de muerte o lesión celular; si bien estas últimas no desempeñan una función fisiológica en el plasma, su aparición o sus concentraciones son de utilidad en el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades y lesiones que afectan tejidos específicos. Después de lesión, la concentración plasmática de una enzima liberada puede aumentar en etapas tempranas o tardías, y declinar de manera rápida o con lentitud. Las proteínas del citoplasma tienden a aparecer con mayor rapidez que las de organelos subcelulares. La rapidez con la cual las enzimas y otras proteínas son eliminadas del plasma varía con su susceptibilidad a proteólisis y permeabilidad a través de los glomérulos renales.

El análisis cuantitativo de la actividad de las enzimas o de otras proteínas liberadas —por lo general en plasma o suero, aunque también en orina o en diversas células— proporciona información respecto del diagnóstico, el pronóstico y la respuesta al tratamiento. En el análisis de la *actividad* enzimática de manera característica se emplean valoraciones cinéticas estándar de índices de reacción inicial. De manera alternativa, las radioinmunovaloraciones (RIA) proporcionan cuantificación de la *cantidad* absoluta de una enzima o de proteína no catalítica. El cuadro 7-2 lista varias enzimas valiosas en el diagnóstico clínico; sin embargo, estas enzimas no son absolutamente específicas para la enfermedad indicada. Por ejemplo, las concentraciones sanguíneas elevadas en fosfatasa ácida prostática a menudo se relacionan con cáncer prostático, pero también con ciertos cánceres y enfermedades no cancerosas. En consecuencia, los datos de la valoración enzimática deben considerarse junto con otros factores recabados por medio de un examen clínico integral. Los factores por considerar en la interpretación de los datos sobre enzimas comprenden la edad del paciente, el sexo, los antecedentes

CUADRO 7-2 Principales enzimas séricas usadas en el diagnóstico clínico

Enzima sérica	Principal uso diagnóstico
Aminotransferasas	
Aspartato aminotransferasa (AST o SGOT)	Infarto de miocardio
Alanina aminotransferasa (ALT o SGPT)	Hepatitis viral
Amilasa	Pancreatitis aguda
Ceruloplasmina	Degeneración hepatolenticular (enfermedad de Wilson)
Creatina cinasa	Trastornos musculares e infarto de miocardio
γ-Glutamil transferasa	Diversas enfermedades hepáticas
Isozima 5 de la lactato deshidrogenasa	Enfermedades hepáticas
Lipasa	Pancreatitis aguda
Fosfatasa ácida	Carcinoma metastásico de la próstata
Fosfatasa alcalina (isozimas)	Diversos trastornos óseos, enfermedades hepáticas obstructivas

Nota: Muchas de las enzimas anteriores no son específicas para la enfermedad listada.

personales no patológicos y patológicos, el posible consumo de fármacos o drogas, así como la sensibilidad y la especificidad diagnóstica de la prueba enzimática.

Las enzimas ayudan al diagnóstico de infarto de miocardio (MI)

Una enzima útil para enzimología diagnóstica debe ser hasta cierto punto específica para el tejido u órgano bajo estudio, aparecer en el plasma u otro líquido en un momento útil para el diagnóstico (la "ventana diagnóstica") y prestarse a la valoración automatizada. Las enzimas que se utilizan para confirmar un MI ilustran el concepto de una "ventana diagnóstica" y proporcionan una perspectiva histórica sobre el uso de diferentes enzimas para este propósito.

La detección de una enzima debe ser posible en el transcurso de algunas horas, luego de un MI para confirmar un diagnóstico preliminar y permitir el inicio de terapia apropiada. De este modo, las enzimas que sólo aparecen en el plasma 12 h o más después de lesión, tienen utilidad limitada. Las primeras enzimas usadas para diagnosticar MI fueron la aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH). Sin embargo, la AST y la ALT resultaron no ser las idóneas, puesto que aparecen en el plasma con relativa lentitud y no son específicas para el músculo cardiaco. Si bien la lactato deshidrogenasa también se libera con relativa lentitud hacia el plasma, ofreció la ventaja de especificidad hística como una consecuencia de su estructura cuaternaria.

La LDH es una enzima tetramérica que consta de dos tipos de monómeros: H (de *heart* [corazón]) y M (de músculo) que se combinan para dar cinco isozimas de LDH: HHHH (I_1), HHHM (I_2), HHMM (I_3), HMMM (I_4) y MMMM (I_5). La expresión específica para tejido de los genes que codifican para H y M determina las proporciones relativas de cada subunidad en diferentes tejidos. La isozima I_1 predomina en el tejido cardiaco y la isozima I_5 en el hígado; de modo que la lesión hística libera un modelo característico de isozimas de LDH que es posible separar mediante electroforesis y detectar usando una valoración acoplada (fig. 7-12). En la actualidad, la LDH ha quedado suplantada como un marcador para MI por otras proteínas que aparecen con mayor rapidez en el plasma.

La creatina cinasa (CK) tiene tres isozimas: CK-MM (músculo estriado), CK-BB (cerebro) y CK-MB (corazón y músculo estriado). La CK-MB tiene una ventana diagnóstica útil; aparece en el transcurso de 4 a 6 h luego de un MI, alcanza un máximo a las 24 h, y regresa a la basal hacia las 48 a 72 h. Al igual que para la LDH, las isozimas de CK individuales son separables mediante electroforesis, lo que facilita la detección.

Hoy, en casi todos los laboratorios clínicos para el diagnóstico de MI, la CK se ha complementado mediante la troponina. Sin embargo, dado que la CK-MB también se libera en el momento de lesión de músculo estriado, la valoración de las concentraciones

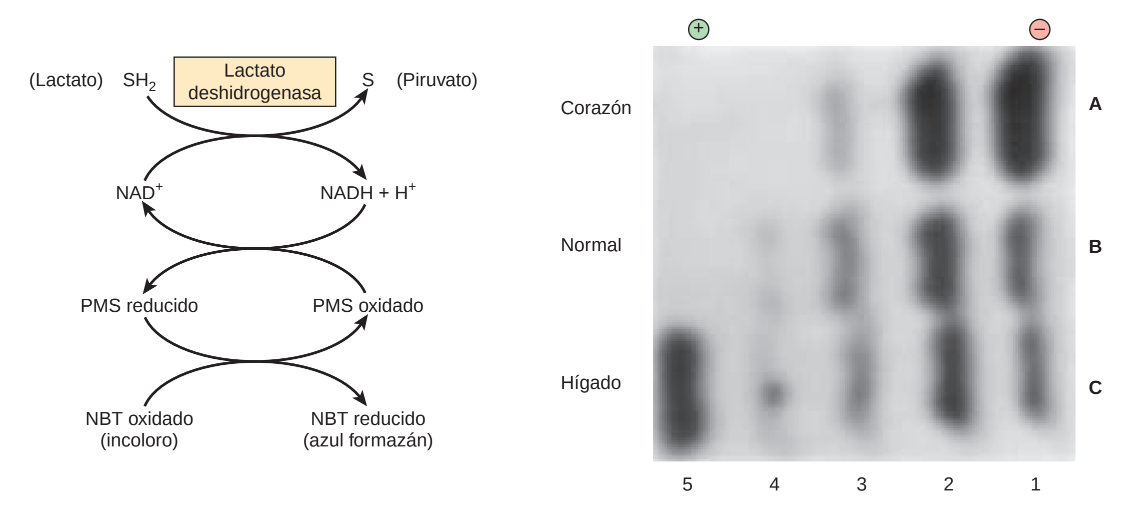


FIGURA 7-12 Modelos normal y patológico de isozimas de lactato deshidrogenasa (LDH) en el suero humano. Las isozimas de LDH en el suero se separaron mediante electroforesis y fueron visualizadas usando el orden de reacción acoplado que se muestra a la izquierda (NBT, nitroazul tetrazolio; PMS, metilsulfato de fenazina). A la derecha se muestra el electroferograma coloreado. El modelo A es suero de un paciente con un infarto de miocardio; B es suero normal, y C es suero de un paciente con enfermedad hepática. Los números arábigos denotan isozimas de LDH específicas.

plasmáticas de CK aún se usa para evaluar trastornos del músculo estriado, como distrofia muscular de Duchenne.

La **troponina** es un complejo de tres proteínas comprendidas en la contracción muscular en los *músculos estriado* y *cardiaco*, no así en el *músculo liso* (cap. 49). La medición inmunológica de las concentraciones plasmáticas de troponinas cardiacas I y T proporciona indicadores sensibles y específicos de daño del músculo cardiaco. Las concentraciones de troponina aumentan 2 a 6 h después de un MI y permanecen elevadas durante 4 a 10 días. Además del MI, otro tipo de daño del músculo cardiaco también aumenta las concentraciones séricas de troponina. Así que las troponinas cardiacas sirven como un marcador de todo el daño del músculo cardiaco. La búsqueda de marcadores adicionales para enfermedad cardiaca —como albúmina modificada por isquemia y la evaluación simultánea de un espectro de marcadores diagnósticos por medio de proteómica— aún es un área activa de investigación clínica.

También es factible emplear enzimas en el laboratorio clínico como herramientas para determinar la concentración de metabolitos críticos; por ejemplo, la glucosa oxidasa suele utilizarse para medir la concentración plasmática de glucosa. Cada vez con mayor frecuencia se emplean enzimas como recursos para el tratamiento de lesión y enfermedad. El activador del plasminógeno hístico (tPA) o la estreptocinasa se usan en el tratamiento de MI agudo, mientras que la tripsina ha sido utilizada en el tratamiento de fibrosis quística (cap. 54).

LAS ENZIMAS FACILITAN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES GENÉTICAS E INFECCIOSAS

En muchas técnicas diagnósticas se aprovechan la especificidad y eficiencia de las enzimas que actúan sobre oligonucleótidos como el DNA (cap. 39). Las enzimas conocidas como **endonucleasas de restricción**, por ejemplo, dividen DNA bicatenario en sitios especificados por una secuencia de cuatro, seis o más pares de bases llamados **sitios de restricción**. La división de una muestra de DNA con una enzima de restricción produce un grupo característico de fragmentos de DNA de menor tamaño (cap. 39). Las desviaciones del modelo de producto normal, llamadas **polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (RFLP)**, ocurren si una mutación hace a un sitio de restricción irreconocible para su endonucleasa de restricción cognada o, de manera alternativa, genera un nuevo sitio de reconocimiento. Los RFLP en la actualidad se utilizan para facilitar la detección prenatal de diversos trastornos hereditarios, entre ellos rasgo de células falciformes, talasemia β, fenilcetonuria en lactantes y enfermedad de Huntington.

En la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)** se emplean una DNA polimerasa termoestable y preparadores oligonucleótido apropiados para producir miles de copias de un segmento definido de DNA a partir de una cantidad diminuta de material inicial (cap. 39). La PCR permite a los científicos médicos, biológicos y forenses detectar y caracterizar DNA que en un inicio está presente a cifras demasiado bajas como para realizar una detección directa. Además de investigar mutaciones genéticas, la PCR puede usarse para detectar e identificar agentes patógenos y parásitos como *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la enfermedad de Chagas, y *Neisseria meningitidis*, el agente causal de la meningitis bacteriana, por medio de la amplificación selectiva de su DNA.

EL DNA RECOMBINANTE CONSTITUYE UN IMPORTANTE RECURSO PARA ESTUDIAR ENZIMAS

La tecnología de DNA recombinante ha surgido como un recurso importante en el estudio de las enzimas; a fin de examinar la estructura y función de enzimas es necesario contar con muestras muy purificadas de las mismas. El aislamiento de una enzima individual, en particular si está presente en una concentración baja, de entre las miles de proteínas existentes en una célula, en ocasiones es una tarea en extremo difícil. Si el gen que codifica para la enzima de interés ha sido clonado, por lo general es posible producir grandes cantidades de su proteína codificada en *Escherichia coli* o levadura. Sin embargo, no todas las proteínas animales pueden expresarse de forma activa en células microbianas ni los microbios realizan ciertas tareas de procesamiento postraduccional. Debido a ello, un gen puede expresarse en sistemas de células animales en cultivo empleando el vector de expresión baculovirus para transformar células de insecto cultivadas. El capítulo 39 presenta más detalles respecto a las técnicas de DNA recombinante.

Las proteínas de fusión recombinantes se purifican mediante cromatografía de afinidad

La tecnología de DNA recombinante también puede usarse para crear proteínas modificadas que se purifican con facilidad mediante cromatografía de afinidad. El gen de interés se enlaza a una secuencia de oligonucleótido que codifica una extensión carboxilo o

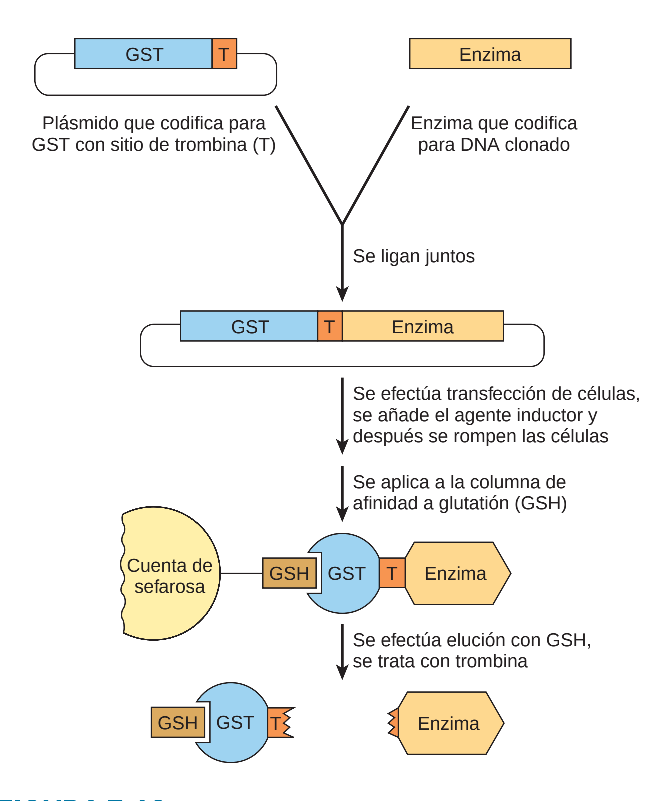


FIGURA 7-13 Uso de proteínas de fusión glutatión S-transferasa (GST) para purificar proteínas recombinantes (GSH, glutatión).

amino terminal para la proteína codificada. La proteína modificada resultante, llamada **proteína de fusión**, contiene un dominio hecho a la medida para interactuar con un soporte de afinidad específico. Un método popular es fijar un oligonucleótido que codifica para seis residuos histidina consecutivos. La proteína "marca de His" (o "cola de His") que se expresa se une a soportes cromatográficos que contienen un ion metálico divalente inmovilizado como Ni^{2+}. De manera alternativa, el dominio de unión a sustrato de la glutatión S-transferasa (GST) puede servir como una "marca de GST". La figura 7-13 ilustra la purificación de una proteína de fusión GST usando un soporte de afinidad que contiene glutatión unido. Las proteínas de fusión a menudo también codifican para un sitio de división para una proteasa muy específica como la trombina en la región que enlaza las dos porciones de la proteína; esto permite la eliminación del dominio de fusión añadido después de purificación de afinidad.

La mutagénesis dirigida hacia sitio proporciona información mecanicista

Una vez que se ha establecido la capacidad para expresar una proteína a partir de su gen clonado, cabe la posibilidad de emplear **mutagénesis dirigida hacia sitio** para cambiar residuos aminoacilo específicos al alterar sus codones. Usado en combinación con análisis cinéticos y cristalografía con rayos X, este método facilita la identificación de las funciones específicas de residuos aminoacilo dados en la unión a sustrato y la catálisis. Por ejemplo, la inferencia de que un residuo aminoacilo particular funciona como un ácido general puede probarse mediante remplazarlo con un residuo aminoacilo incapaz de donar un protón.

RESUMEN

- Las enzimas son catalizadores muy e caces y en extremo especí cos.
- Los grupos prostéticos orgánicos e inorgánicos, los cofactores y las coenzimas desempeñan funciones importantes en la catálisis. Las coenzimas, muchas de las cuales son derivados de vitaminas B, sirven como "transbordadores".
- Los mecanismos catalíticos empleados por enzimas comprenden la introducción de tensión, la aproximación de reactivos, la catálisis acidobásica y la catálisis covalente.
- Los residuos aminoacilo que participan en la catálisis están muy conservados entre todas las clases de una enzima dada.
- Los sustratos y las enzimas inducen cambios conformacionales mutuos en el otro, que facilitan el reconocimiento de sustrato y la catálisis.
- La actividad catalítica de enzimas revela su presencia, facilita su detección y proporciona la base para inmunovaloraciones ligadas a enzima.
- Muchas enzimas pueden valorarse en el aspecto espectrofotométrico al acoplarlas a una deshidrogenasa dependiente de $NAD(P)^+$.
- La química combinacional genera bibliotecas extensas de activadores e inhibidores de enzima potenciales que pueden probarse mediante investigación de alta capacidad de procesamiento.
- La valoración de enzimas plasmáticas ayuda al diagnóstico y el pronóstico, por ejemplo, de infarto de miocardio.
- Las endonucleasas de restricción facilitan el diagnóstico de enfermedades genéticas al revelar polimor smos de longitud de fragmento de restricción.
- La mutagénesis dirigida hacia sitio, que se usa para cambiar residuos que se sospecha son importantes en la catálisis o la unión a sustrato, proporciona información acerca de los mecanismos de acción de enzima.
- Las proteínas de fusión recombinantes, como His marcada o enzimas de fusión de GST, se puri can con facilidad por medio de cromatografía de a nidad.
- A continuación, proteasas especí cas pueden eliminar "marcas" de a nidad y generar la enzima natural.

REFERENCIAS

Brik A, Wong C-H: HIV-1 protease: Mechanism and drug discovery. Org Biomol Chem 2003;1:5.

Burtis CA et al. (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier, 2006.

Conyers GB et al: Metal requirements of a diadenosine pyrophosphatase from *Bartonella bacilliformis.* Magnetic resonance and kinetic studies of the role of Mn^{2+}. Biochemistry 2000;39:2347.

Cornish PV, Ha T: A survey of single-molecule techniques in chemical biology. ACS Chem Biol 2007;2:53.

Fersht A: *Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding.* Freeman, 1999.

Frank RAW, et al: A molecular switch and proton wire synchronize the active sites in thiamine enzymes. Science 2004;306:872.

Geysen HM, Schoenen F, Wagner D, Wagner R: Combinatorial compound libraries for drug discovery: An ongoing challenge. Nature Rev Drug Disc 2003;2:222.

Goddard J-P, Reymond J-L: Enzyme assays for high-throughput screening. Curr Opin Biotech 2004;15:314.

Gupta S, de Lemos JA: Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. Prog Cardiovasc Dis 2007;50:151.

Hedstrom L: Serine protease mechanism and speci city. Chem Rev 2002;102:4501.

Melanson SF, Tanasijevic MJ. Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. Cardiovascular Pathol 2005;14:156.

Pereira DA, Williams JA: Origin and evolution of high throughput screening. Br J Pharmacol 2007;152:53.

Schafer B, Gemeinhardt H, Greulich KO: Direct microscopic observation of the time course of single-molecule DNA restriction reactions. Agnew Chem Int Ed 2001;40:4663.

Silverman RB: *e Organic Chemistry of Enzyme-Catalyzed Reactions.* Academic Press, 2002.

Suckling CJ: *Enzyme Chemistry.* Chapman & Hall, 1990.

Sundaresan V, Abrol R: Towards a general model for protein-substrate stereoselectivity. Protein Sci 2002;11:1330.

Todd AE, Orengo CA, ornton JM: Plasticity of enzyme active sites. Trends Biochem Sci 2002;27:419.

Urich T et al: X-ray structure of a self-compartmentalizing sulfur cycle metalloenzyme. Science 2006;311:996.

Walsh CT: *Enzymatic Reaction Mechanisms*. Freeman, 1979.

CAPÍTULO

8

Enzimas: cinética

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La **cinética enzimática** es el campo de la bioquímica que se encarga de la medición cuantitativa de los índices de reacciones catalizadas por enzimas, y del estudio sistemático de factores que afectan estos índices. Un conjunto completo y balanceado de actividades enzimáticas tiene importancia fundamental para el mantenimiento de la homeostasis. De este modo, una comprensión de la cinética enzimática es importante para entender de qué modo los estados de estrés fisiológico, como la anoxia, la acidosis o alcalosis metabólica, las toxinas y los agentes farmacológicos afectan ese equilibrio. El análisis cinético puede revelar el número y orden de los pasos individuales mediante los cuales las enzimas transforman sustratos en productos. Junto con la mutagénesis dirigida hacia sitio y otras técnicas que sondean la estructura de proteínas, los análisis cinéticos revelan detalles del mecanismo catalítico de una enzima dada. La participación de las enzimas en casi todos los procesos fisiológicos hace de ellas los mejores objetivos para fármacos que curan o aminoran la enfermedad en seres humanos. La cinética enzimática aplicada representa el principal recurso mediante el cual los científicos identifican y caracterizan agentes terapéuticos que inhiben de manera selectiva los índices de procesos catalizados por enzima específicos. De este modo, la cinética enzimática desempeña una función crucial en el descubrimiento de fármacos y en la farmacodinámica comparativa, así como en la dilucidación del modo de acción de los fármacos.

LAS REACCIONES QUÍMICAS SE DESCRIBEN USANDO ECUACIONES BALANCEADAS

Una **ecuación química balanceada** lista las especies químicas iniciales (sustratos) presentes y las nuevas especies químicas (productos) formadas para una reacción química particular, todas en sus proporciones o **estequiometría** correctas. Por ejemplo, en la ecuación balanceada (1) que aparece a continuación se describe la reacción de una molécula, cada una, de sustratos A y B, para formar una molécula, cada una, de productos P y Q.

$$A + B \rightleftarrows P + Q \quad (1)$$

Las dobles flechas indican reversibilidad, propiedad intrínseca de todas las reacciones químicas. De este modo, para la reacción (1), si A y B pueden formar P y Q, estos últimos también pueden formar A y B. Por ende, la designación de un reactivo particular como "sustrato" o "producto" es un poco arbitraria porque los productos para una reacción descrita en una dirección son los sustratos para la reacción inversa. Sin embargo, el término "producto" a menudo se usa para designar los reactivos cuya formación es favorecida desde el punto de vista termodinámico. Las reacciones para las cuales los factores termodinámicos favorecen de manera significativa la formación de los productos hacia los cuales apunta la flecha, a menudo se representan con una flecha única como si fueran "irreversibles":

$$A + B \rightarrow P + Q \quad (2)$$

También se usan flechas unidireccionales para describir reacciones en células vivas en las cuales los productos de la reacción (2) son consumidos de inmediato por una reacción subsiguiente catalizada por enzima. Por ende, la eliminación rápida del producto P o Q impide de manera efectiva la reacción inversa, lo que hace a la ecuación (2) **irreversible desde el punto de vista funcional en condiciones fisiológicas**.

LOS CAMBIOS DE LA ENERGÍA LIBRE DETERMINAN LA DIRECCIÓN Y EL ESTADO DE EQUILIBRIO DE REACCIONES QUÍMICAS

El cambio de energía libre de Gibbs ΔG (también llamado la energía libre o energía de Gibbs) describe tanto la *dirección* en la cual tenderá a proceder una reacción química, como las concentraciones de reactivos y productos que estarán presentes en equilibrio. La ΔG para una reacción química es igual a la suma de las energías libres de la formación de los productos de la reacción ΔG_P menos la suma de las energías libres de formación de los sustratos ΔG_s. ΔG^0 denota el cambio de energía libre que acompaña a la transición desde el estado estándar, concentraciones uno molar de sustratos y productos, hasta el equilibrio. Un término bioquímico más útil es $\Delta G^{0'}$, que define el ΔG^0 a un estado estándar de 10^{-7} M protones, pH de 7.0 (cap. 11). Si la energía libre de formación de los productos es más baja que la de los sustratos, los signos de ΔG^0 y $\Delta G^{0'}$ serán negativos, lo que indica que la reacción como está escrita se favorece en la dirección de izquierda a derecha. Esas reacciones se denominan **espontáneas**. El **signo** y la **magnitud** del cambio de energía libre determinan qué tan lejos procederá la reacción. En la ecuación (3) se ilustra la relación entre la constante de equilibrio K_{eq} y ΔG^0,

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (3)$$

donde R es la constante gaseosa (1.98 cal/mol°K u 8.31 J/mol°K) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin. K_{eq} es igual al producto de las concentraciones de los productos de la reacción, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría, dividido por el producto de los sustratos, cada uno elevado a la potencia de su estequiometría.

Para la reacción $A + B \rightleftarrows P + Q$

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (4)$$

y para la reacción (5)

$$A + A \rightleftarrows P \quad (5)$$

$$K_{eq} = \frac{[P]}{[A]^2} \quad (6)$$

ΔG^0 puede calcularse a partir de la ecuación (3) si se conocen las concentraciones molares de sustratos y productos presentes en equilibrio. Si ΔG^0 es un número negativo, K_{eq} será mayor que la unidad, y la concentración de productos en equilibrio excederá la de los sustratos. Si ΔG^0 es positiva, K_{eq} será menor que la unidad, y se favorecerá la formación de sustratos.

Note que, dado que ΔG^0 está en función exclusivamente de los estados inicial y final de las especies que están reaccionando, sólo puede proporcionar información acerca de la *dirección* y el *estado de equilibrio* de la reacción. ΔG^0 es independiente del mecanismo de la reacción y, por ende, no proporciona información acerca de ***índices*** de reacciones. En consecuencia —y como se explica más adelante—, aunque una reacción puede tener una ΔG^0 o $\Delta G^{0\prime}$ negativa grande, puede, sin embargo, tener lugar a un índice insignificante.

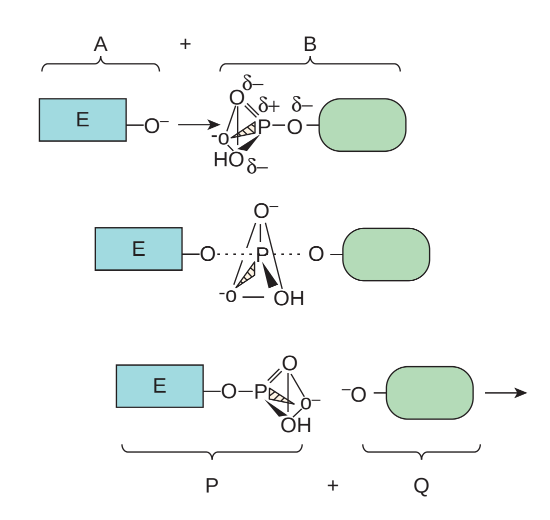


FIGURA 8-1 Formación de un intermediario de estado de transición durante una reacción química simple, $A + B \rightarrow P + Q$. Se muestran tres etapas de una reacción química en la cual un grupo fosforilo se transfiere desde el grupo L que sale hacia el grupo E que entra. **Arriba:** el grupo E de que entra (A) se acerca al otro reactivo, L-fosfato (B). Note cómo los tres átomos de oxígeno enlazados por las líneas triangulares y el átomo de fósforo del grupo fosforilo forman una pirámide. **Centro:** a medida que E se aproxima al L-fosfato, empieza a formarse el nuevo enlace entre E y el grupo fosfato (línea punteada) a medida que el que enlaza L al grupo fosfato se debilita. Estos enlaces parcialmente formados están indicados por líneas punteadas. **Abajo:** la formación del nuevo producto, E-fosfato (P), ahora está completa a medida que el grupo L (Q) que sale, egresa. Note cómo la forma del grupo fosforilo difiere entre el estado de transición y el sustrato o producto. Vea la manera en que el fósforo y tres átomos de oxígeno que ocupan los cuatro ángulos de una pirámide en el sustrato y el producto se hacen coplanares, como se recalca por el triángulo, en el estado de transición.

LOS ÍNDICES DE REACCIONES ESTÁN DETERMINADOS POR SU ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

Las reacciones proceden por estados de transición

El concepto de **estado de transición** es fundamental para entender las bases química y termodinámica de la catálisis. En la ecuación (7) se describe una reacción de transferencia de grupo en la cual un grupo E que está entrando desplaza a un grupo L que está saliendo, en un inicio fijo a R.

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad (7)$$

El resultado neto de este proceso es transferir el grupo R desde L hacia E. A la mitad del desplazamiento, el enlace entre R y L se ha debilitado pero todavía no se ha roto por completo, y el nuevo enlace entre E y R hasta ahora está formado de manera incompleta. Dicho intermediario transitorio —en el cual no existe sustrato ni producto libre— se denomina el **estado de transición, E···R···L**. Las líneas punteadas representan los enlaces "parciales" que están pasando por formación y rotura. En la figura 8-1 se proporciona una ilustración más detallada del estado de transición intermedio formado durante la transferencia de un grupo fosforilo.

Cabe considerar que la reacción (7) consta de dos "reacciones parciales"; la primera corresponde a la formación (F) y la segunda a la descomposición (D) subsiguiente del intermediario de estado de transición. Al igual que para todas las reacciones, los cambios característicos de la energía libre, ΔG_F y ΔG_D se relacionan con cada reacción parcial.

$$E + R - L \rightleftarrows E\cdots R\cdots L \quad \Delta G_F \quad (8)$$

$$E \quad R \quad L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G_D \quad (9)$$

$$E + R - L \rightleftarrows E - R + L \quad \Delta G = \Delta G_F + \Delta G_D \quad (10)$$

Para la reacción general (10), ΔG es la suma de ΔG_F y ΔG_D. Al igual que para cualquier ecuación de dos términos, es imposible inferir a partir de ΔG el signo o la magnitud de ΔG_F o ΔG_D.

Muchas reacciones comprenden múltiples estados de transición, cada uno con un cambio relacionado de energía libre. Para estas reacciones, la ΔG general representa la suma de *todos* los cambios de energía libre relacionados con la formación y la descomposición de *todos* los estados de transición. **Por ende, a partir de la**

ΔG general es imposible inferir el número o el tipo de estados de transición a través de los cuales procede la reacción. Dicho de otra manera, la termodinámica general no dice nada acerca de la cinética.

La ΔG_F define la energía de activación

Al margen del signo o la magnitud de ΔG, la ΔG_F para la mayoría de reacciones químicas tiene un signo positivo, de modo que la formación de intermediarios de estado de transición requiere superar barreras de energía. Por esta razón, la ΔG_F para llegar a un estado de transición a menudo se denomina la **energía de activación**, E_{act}. La facilidad —y por ende, la frecuencia— con la cual esta barrera se supera se relaciona de manera inversa con E_{act}. De este modo, los parámetros termodinámicos que determinan la *rapidez* con la cual procede una reacción, son los valores ΔG_F para la formación de los estados de transición a través de los cuales procede la reacción. Para una reacción simple, donde £ significa "proporcional a",

$$\text{Índice} \propto e^{-E_{act}/RT} \quad (11)$$

La energía de activación para la reacción que está procediendo en la dirección opuesta a la trazada es igual a $-\Delta G_D$.

MUCHOS FACTORES AFECTAN EL ÍNDICE DE REACCIÓN

La **teoría cinética** —también llamada la **teoría de la coalición**— de cinética química declara que para que dos moléculas reaccionen, deben: 1) aproximarse dentro de la distancia formadora de enlace de la otra, o "chocar", y 2) poseer suficiente energía cinética para vencer la barrera de energía para alcanzar el estado de transición. Por ende, resulta que cualquier cosa que aumente la *frecuencia* o *energía* de colisión entre sustratos aumentará el índice de la reacción en la cual participan.

Temperatura

Aumentar la temperatura incrementa la energía cinética de las moléculas. El número total de moléculas cuya energía cinética excede la barrera de energía E_{act} (barra vertical) para la formación de productos aumenta desde temperaturas bajas (A), pasando por intermedias (B) hasta altas (C) (fig. 8-2). El aumento de la energía cinética de moléculas también aumenta su rapidez de movimiento y, por ende, la frecuencia con la cual chocan. Esta combinación de choques más frecuentes y más energéticos y productivos, aumenta el índice de reacción.

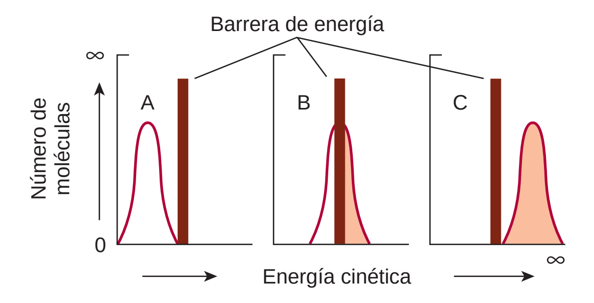


FIGURA 8-2 La barrera de energía para reacciones químicas. (Véase la exposición en el texto.)

Concentración de reactivo

La frecuencia con la cual las moléculas chocan es directamente proporcional a sus concentraciones. Para dos moléculas diferentes, A y B, la frecuencia con la cual chocan se duplicará si se duplica la concentración de A o de B. Si las concentraciones tanto de A como de B se duplican, la probabilidad de choque aumentará cuatro veces.

Para una reacción química que procede a una temperatura constante que comprende una molécula, cada una, de A y B,

$$A + B \rightarrow P \quad (12)$$

el número de moléculas que poseen energía cinética suficiente para superar la barrera de energía de activación será una constante. Por ende, el número de choques con suficiente energía para producir el producto P será directamente proporcional al número de choques entre A y B y, así, y a sus concentraciones molares, denotadas por corchetes.

$$\text{Índice} \propto [A][B] \quad (13)$$

De modo similar, para la reacción representada por

$$A + 2B \rightarrow P \quad (14)$$

que también puede escribirse como

$$A + B + B \rightarrow P \quad (15)$$

el índice de expresión correspondiente es

$$\text{Índice} \propto [A][B][B] \quad (16)$$

o

$$\text{Índice} \propto [A][B]^2 \quad (17)$$

Para el caso general, cuando n moléculas de A reaccionan con m moléculas de B,

$$nA + mB \rightarrow P \quad (18)$$

el índice de expresión es

$$\text{Índice} \propto [A]^n[B]^m \quad (19)$$

Remplazar el signo de proporcionalidad con signos de igual al introducir una **constante de índice k** característica de la reacción en estudio da las ecuaciones (20) y (21), en las cuales los números 1 y –1 se refieren a las reacciones hacia adelante e inversa, respectivamente.

$$\text{Índice}_1 = k_1[A]^n[B]^m \quad (20)$$

$$\text{Índice}_{-1} = k_{-1}[P] \quad (21)$$

La suma de las proporciones molares de los reactivos define el **orden cinético** de la reacción. Considere la reacción (5). El coeficiente estequiométrico para el reactivo único, A, es dos. Por ende, el índice de producción de P es proporcional al cuadrado de [A], y se dice que la reacción es de *segundo orden* respecto del reactivo A. En este caso, la reacción general también es de *segundo orden*. Por ende, k_1 se denomina una *constante de índice de segundo orden*.

En la reacción (12) se describe una reacción de segundo orden simple entre dos reactivos diferentes, A y B. El coeficiente estequiométrico para cada reactivo es uno. Por ende, mientras que el orden general de la reacción es dos, se dice que es de *primer orden* respecto de A, y de *primer orden* respecto de B. En el laboratorio, el orden cinético de una reacción respecto de un reactivo particular, al cual se hace referencia como el reactivo variable o sustrato, puede determinarse al mantener la concentración de los otros reactivos a una concentración constante, o fija, en un gran exceso sobre el reactivo variable. En estas *condiciones de seudoprimer orden*, la concentración del (o los) reactivo(s) fijo(s) permanece casi constante. De este modo, el índice de reacción dependerá de manera exclusiva de la concentración del reactivo variable, a veces también llamado el reactivo limitante. Los conceptos de orden de reacción y condiciones de seudoprimer orden no sólo se aplican a reacciones químicas simples, sino también a reacciones catalizadas por enzimas.

K_{eq} es una proporción de constantes de índice

Si bien todas las reacciones químicas son hasta cierto grado reversibles, en condiciones de equilibrio las concentraciones *generales* de reactivos y productos permanecen constantes. Por ende, en equilibrio, el índice de conversión de sustratos en productos, es igual al índice al cual los productos se convierten en sustratos.

$$\text{Índice}_1 = \text{Índice}_{-1} \quad (22)$$

Por ende,

$$k_1[A]^n[B]^m = k_{-1}[P] \quad (23)$$

y

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[P]}{[A]^n[B]^m} \quad (24)$$

La proporción de k_1 a k_{-1} se denomina la constante de equilibrio K_{eq}. Es necesario tener en mente las propiedades importantes que siguen de un sistema en equilibrio:

1. La constante de equilibrio es una proporción de las *constantes de índice* de reacción (no los *índices* de reacción).
2. En equilibrio, los *índices* de reacción (no las *constantes de índice*) de las reacciones hacia adelante y hacia atrás son iguales.
3. El equilibrio es un estado *dinámico*. Aunque no hay cambio *neto* de la concentración de sustratos o productos, moléculas individuales de sustrato y producto continuamente se están interconvirtiendo.
4. El valor numérico de la constante de equilibrio K_{eq} puede calcularse a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio o a partir de la proporción k_1/k_{-1}.

LA CINÉTICA DE LA CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Las enzimas disminuyen la barrera de energía de activación para una reacción

Todas las enzimas aceleran los índices de reacción al disminuir la ΔG_F para la formación de estados de transición. Sin embargo, pueden diferir en la manera en que esto se logra. Cuando el mecanismo o la secuencia de pasos químicos en el sitio activo es, en esencia, equivalente al que ocurre para la misma reacción que está procediendo en ausencia de un catalizador, **el ambiente del sitio activo disminuye la ΔG_F** al estabilizar los intermediarios de estado de transición. En otras palabras, la enzima puede imaginarse como unida al intermediario de estado de transición (fig. 8-1) de manera más estrecha que a sustratos o productos. La estabilización puede comprender: 1) grupos acidobásicos colocados de manera idónea para transferir protones hacia o desde el intermediario de estado de transición, 2) grupos cargados o iones metálicos colocados de manera idónea, que estabilizan cargas que se están formando, o 3) la imposición de tensión estérica sobre sustratos de modo que su forma se aproxima a la del estado de transición (cap. 7). La proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (fig. 7-6) ilustra la catálisis por una enzima que disminuye la barrera de activación al estabilizar un intermediario de estado de transición.

La catálisis por enzimas que procede por medio de un mecanismo de reacción *singular* típicamente ocurre cuando el intermediario del estado de transición forma un enlace covalente con la enzima **(catálisis covalente)**. El mecanismo catalítico de la serina proteasa quimotripsina (fig. 7-7) ilustra la manera en la cual una enzima utiliza catálisis covalente para proporcionar una vía de reacción única.

LAS ENZIMAS NO AFECTAN LA K_{eq}

Si bien las enzimas pueden pasar por modificaciones transitorias durante el proceso de catálisis, siempre salen sin cambios cuando se completa la reacción. **Por ende, la presencia de una enzima no tiene efecto sobre la ΔG^0 para la reacción *general*,** que está en función sólo de los *estados inicial* y *final* de los reactivos. En la ecuación 25 se muestra la relación entre la constante de equilibrio para una reacción y el cambio de energía libre estándar para esa reacción:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{eq} \quad (25)$$

Este principio quizá se ilustra con mayor facilidad al incluir la presencia de la enzima (Enz) en el cálculo de la constante de equilibrio para una reacción catalizada por enzima:

$$A + B + Enz \rightleftarrows P + Q + Enz \quad (26)$$

Dado que la enzima a ambos lados de las dobles flechas está presente en igual cantidad y forma idéntica, la expresión para la constante de equilibrio

$$K_{eq} = \frac{[P][Q][Enz]}{[A][B][Enz]} \quad (27)$$

reduce a una a idéntica a la que procede para la reacción en ausencia de la enzima:

$$K_{eq} = \frac{[P][Q]}{[A][B]} \quad (28)$$

Por ende, las enzimas carecen de efecto sobre K_{eq}.

MÚLTIPLES FACTORES INFLUYEN SOBRE LOS ÍNDICES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA

Temperatura

El aumento de la temperatura incrementa el índice de reacciones tanto no catalizadas como catalizadas por enzima al aumentar la energía y la frecuencia de choque de las moléculas que están reaccionando. Sin embargo, la energía calorífica también aumenta la energía cinética de la enzima hasta un punto que excede la barrera de energía para alterar las interacciones no covalentes que mantienen su estructura tridimensional. La cadena polipeptídica empieza entonces a desdoblarse, o **desnaturalizarse**, con una pérdida acompañante de la actividad catalítica. El rango de temperatura en el cual una enzima mantiene una conformación estable, competente desde el punto de vista catalítico, depende de —y, por lo general, excede de manera moderada— la temperatura normal de las células en las cuales reside. Las enzimas de seres humanos, por lo común, muestran estabilidad a temperaturas de hasta 40 a 55°C. En contraste, las enzimas de los microorganismos termofílicos que residen en manantiales calientes volcánicos u orificios hidrotérmicos submarinos, pueden ser estables hasta 100°C o incluso más.

El $\mathbf{Q_{10}}$, **o coeficiente de temperatura**, es el factor por el cual el índice de un proceso biológico aumenta para un incremento de 10°C de temperatura. Para las temperaturas en las cuales las enzimas son estables, los índices de casi todos los procesos biológicos típicamente se duplican para un aumento de temperatura de 10°C ($Q_{10} = 2$). Los cambios de los índices de reacciones catalizadas por enzima que acompañan a un aumento o disminución de la temperatura corporal constituyen una característica de supervivencia prominente para formas de vida "de sangre fría" como lagartos o peces, cuya temperatura corporal está dictada por el ambiente externo. Sin embargo, para mamíferos y otros organismos homeotérmicos, los cambios de los índices de reacción de enzimas con la temperatura sólo asumen importancia fisiológica en circunstancias como fiebre o hipotermia.

Concentración de ion hidrógeno

El índice de casi todas las reacciones catalizadas por enzima muestra una dependencia importante de la concentración de ion hidrógeno. Casi todas las enzimas intracelulares muestran actividad óptima a valores de pH entre 5 y 9. La relación entre actividad y concentración de ion hidrógeno (fig. 8-3) refleja el equilibrio entre la desnaturalización de enzima a pH alto o bajo, y los efectos sobre el estado cargado de la enzima, los sustratos o ambos. Para enzimas cuyo mecanismo comprende catálisis acidobásica, los residuos comprendidos deben estar en el estado de protonación apropiado para que la reacción proceda. La unión y el reconocimiento de moléculas de sustrato con grupos disociables típicamente también comprenden la formación de puentes salinos con la enzima. Los grupos cargados más frecuentes son grupos carboxilato (negativos) y aminas protonadas (positivos). La ganancia o pérdida de grupos cargados cruciales afecta de manera adversa la unión a sustrato y, así, retrasará o suprimirá la catálisis.

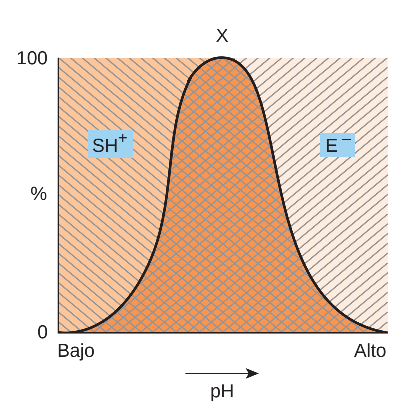


FIGURA 8-3 Efecto del pH sobre la actividad de enzima. Considere, por ejemplo, una enzima con carga negativa (E^-) que se une a un sustrato que tiene carga positiva (SH^+). Se muestra la proporción (%) de SH^+ [\\\] y de E^- [///]como una función del pH. Sólo en el área cuadriculada tanto la enzima como el sustrato portan una carga apropiada.

LAS VALORACIONES DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA POR LO GENERAL MIDEN LA VELOCIDAD INICIAL

En casi todas las mediciones de los índices de reacciones catalizadas por enzima se emplean periodos hasta cierto punto breves, condiciones que se aproximan a las **condiciones de velocidad inicial**. En estas condiciones, sólo se acumulan trazas de producto, lo que hace insignificante al índice de la reacción inversa. De este modo, la **velocidad inicial (v_i)** de la reacción es en esencia la del índice de reacción hacia adelante. En las valoraciones de actividad enzimática casi siempre se emplea un exceso molar grande (10^3 a 10^7) de sustrato sobre enzima. En estas condiciones, v_i es proporcional a la concentración de enzima. Por ende, la medición de la velocidad inicial permite estimar la cantidad de enzima presente en una muestra biológica.

LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO AFECTA EL ÍNDICE DE REACCIÓN

En lo que sigue, las reacciones enzimáticas se tratan como si sólo tuvieran un sustrato único y un producto único. Para enzimas con

múltiples sustratos, los principios que se comentan a continuación se aplican con igual validez. Más aún, al emplear condiciones de seudoprimer orden (véase antes), los científicos pueden estudiar la dependencia del índice de reacción en un reactivo individual por medio de la selección apropiada de sustratos fijos y variables. En otras palabras, en condiciones de seudoprimer orden, la conducta de una enzima con múltiples sustratos imitará a la de otra que cuenta con un solo sustrato. Sin embargo, en estas circunstancias, la constante de índice observada estará en función de la constante de índice de k_1 para la reacción, así como la concentración del (o los) sustrato(s) fijo(s).

Para una enzima típica, a medida que la concentración de sustrato aumenta, v_i se incrementa hasta que alcanza un valor máximo $V_{máx}$ (fig. 8-4). Cuando los aumentos adicionales de la concentración de sustrato no aumentan más la v_i, se dice que la enzima está "saturada" con sustrato. Note que la forma de la curva que relaciona la actividad con la concentración de sustrato (fig. 8-4) es hiperbólica. A cualquier constante dada, sólo las moléculas de sustrato que se combinan con la enzima como un complejo ES pueden transformarse en producto. En segundo lugar, la constante de equilibrio para la formación del complejo de enzima-sustrato no es infinitamente grande. Por ende, aun cuando el sustrato está presente en exceso (puntos A y B de la fig. 8-5), sólo una fracción de la enzima puede estar presente como un complejo ES. Por tanto, de los puntos A o B, aumentar o disminuir [S] aumentará o disminuirá el número de complejos ES con un cambio correspondiente de v_i. En el punto C (fig. 8-5), en esencia toda la enzima está presente como el complejo ES. Dado que no queda enzima libre disponible para formar ES, los aumentos adicionales de [S] no pueden aumentar el índice de la reacción. En estas condiciones de saturación, la v_i depende sólo de —y, de este modo, está limitada por— la rapidez con la cual el producto se disocia de la enzima de modo que logre combinarse con más sustrato.

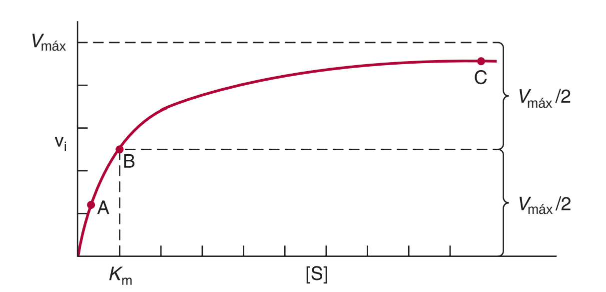


FIGURA 8-4 Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad inicial de una reacción catalizada por enzima.

LAS ECUACIONES DE MICHAELIS-MENTEN Y DE HILL MODELAN LOS EFECTOS DE LA CONCENTRACIÓN DE SUSTRATO

La ecuación de Michaelis-Menten

La ecuación de Michaelis-Menten (29) ilustra en términos matemáticos la relación entre la velocidad de reacción inicial v_i y la concentración de sustrato [S], que se muestra de manera gráfica en la figura 8-4.

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad (29)$$

La constante K_m de Michaelis es la concentración de sustrato a la cual v_i es la mitad de la velocidad máxima ($V_{máx}/2$) alcanzable a una concentración particular de enzima. De este modo, K_m tiene las dimensiones de la concentración de sustrato. La dependencia de la velocidad de reacción inicial de [S] y K_m puede ilustrarse al evaluar la ecuación de Michaelis-Menten en tres condiciones.

1. Cuando [S] es mucho menor que K_m (punto A en las figs. 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a la K_m. El remplazo de K_m + [S] con K_m reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{K_m} \approx \left(\frac{V_{máx}}{K_m}\right)[S] \quad (30)$$

donde ≈ significa "aproximadamente igual a". Dado que tanto $V_{máx}$ como K_m son constantes, su proporción es una constante. En otras palabras, cuando [S] está muy por debajo de K_m, v_i es proporcional a k[S]. Por ende, la velocidad de reacción inicial es directamente proporcional a [S].

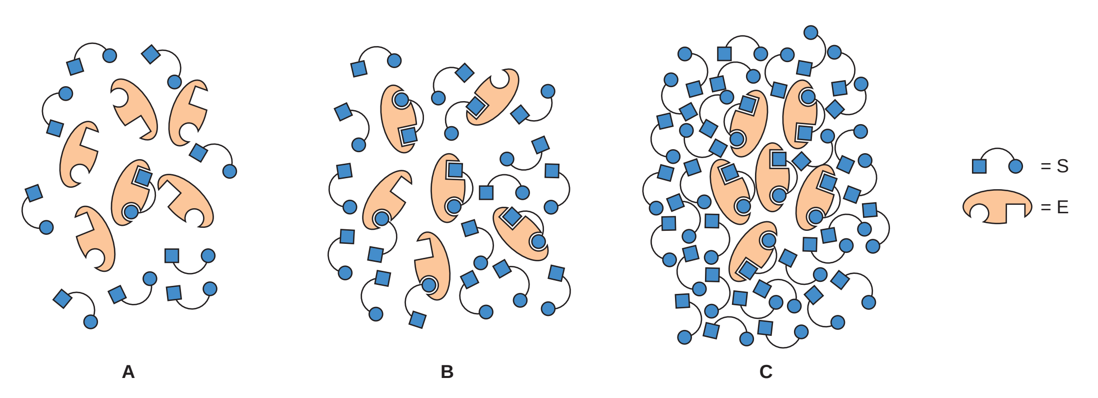


FIGURA 8-5 Representación de una enzima en presencia de una concentración de sustrato que está por debajo de K_m **(A)**, a una concentración igual a K_m **(B)**, y a una concentración bastante por arriba de K_m **(C)**. Los puntos A, B y C corresponden a esos puntos en la figura 8-4.

2. Cuando [S] es mucho mayor que K_m (punto C en las figs. 8-4 y 8-5), el término K_m + [S] es en esencia igual a [S]. Remplazar K_m + [S] por [S] reduce la ecuación (29) a

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{máx}[S]}{[S]} \approx V_{máx} \tag{31}$$

De este modo, cuando [S] excede con mucho a K_m, la velocidad de reacción es máxima ($V_{máx}$) y no está afectada por aumentos adicionales de la concentración de sustrato.

3. Cuando [S] = K_m (punto B en las figs. 8-4 y 8-5).

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{máx}[S]}{2[S]} = \frac{V_{máx}}{2} \tag{32}$$

La ecuación (32) declara que cuando [S] es igual a K_m, la velocidad inicial es de la mitad del máximo. La ecuación (32) también revela que K_m es —y puede determinarse la manera experimental a partir de— la concentración de sustrato a la cual la velocidad inicial es la mitad del máximo.

Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten se usa para determinar K_m y $V_{máx}$

La medición directa del valor numérico de $V_{máx}$, y, por consiguiente, el cálculo de K_m, a menudo requiere concentraciones altas poco prácticas de sustrato para alcanzar condiciones de saturación. Una forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten evita esta dificultad y permite extrapolar $V_{máx}$ y K_m desde de datos de velocidad inicial obtenidos a concentraciones de sustrato menores que las que producen saturación. Se empieza con la ecuación (29),

$$v_i = \frac{V_{máx}[S]}{K_m + [S]} \tag{29}$$

se invierte

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m + [S]}{V_{máx}[S]} \tag{33}$$

se factoriza

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_m}{V_{máx}[S]} + \frac{[S]}{V_{máx}[S]} \tag{34}$$

y se simplifica

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{máx}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}} \tag{35}$$

La ecuación (35) es la ecuación para una línea recta $y = ax + b$, donde $y = 1/v_i$ y $x = 1/[S]$. Un gráfico de $1/v_i$ en el eje y, expresado como una función de 1/[S] en el eje x, da una línea recta cuya intersección en el eje y se define como $1/V_{máx}$ y la pendiente se define como $K_m/V_{máx}$. Ese gráfico se conoce como **gráfico del doble recíproco** o **de Lineweaver-Burk** (fig. 8-6). Establecer el término y de la ecuación (36) igual a cero y resolver para x, revela que la intersección x es $-1/K_m$.

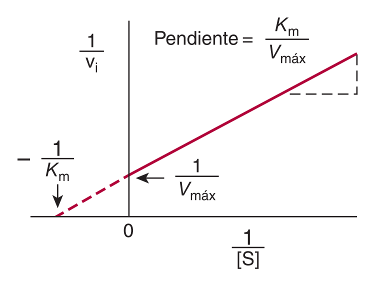


FIGURA 8-6 Gráfico del doble recíproco o de Lineweaver-Burk de $1/v_i$ en contraposición con 1/[S] usado para evaluar la K_m y $V_{máx}$.

$$0 = ax + b; \quad \text{por tanto,} \quad x = \frac{-b}{a} = \frac{-1}{K_m} \tag{36}$$

De este modo, K_m se calcula con mayor facilidad a partir de la intersección x negativa.

La mayor virtud del gráfico de Lineweaver-Burk reside en la facilidad con la cual puede usarse para determinar los mecanismos cinéticos de inhibidores de enzima (véase más adelante). Sin embargo, al usar un gráfico del doble recíproco para determinar constantes cinéticas, es importante evitar la introducción de sesgo por la agrupación de datos a valores bajos de 1/[S]. Para lograr esto, se prepara una solución de sustrato cuya dilución hacia una valoración producirá la concentración deseada máxima de sustrato. Ahora se utiliza el mismo volumen de soluciones preparadas al diluir la solución madre por factores de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, etc. Los datos entonces caerán en el eje 1/[S] a intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, etc. De manera alternativa, para minimizar la agrupación puede usarse un gráfico del recíproco único, como el de Eadie-Hofstee (v_i contra v_i/[S]) o de Hanes-Woolf ([S]/v_i contra [S]).

La constante catalítica, k_{cat}

Es factible usar varios parámetros para comparar la actividad relativa de diferentes enzimas o de diferentes preparaciones de la misma enzima. La actividad de preparaciones de enzima impuras por lo general se expresa como *actividad específica* ($V_{máx}$ dividida entre la concentración de proteína). Para una enzima homogénea es posible calcular su *número de recambio* ($V_{máx}$ dividida entre los mol de enzima presentes). Sin embargo, si se conoce el número de sitios activos presentes, la actividad catalítica de una enzima homogénea se expresa mejor como su *constante catalítica*, k_{cat} ($V_{máx}$ dividida entre el número de sitios activos, S_t).

$$k_{cat} = \frac{V_{máx}}{S_t} \tag{37}$$

Dado que las unidades de concentración se anulan, las unidades de k_{cat} son tiempo recíproco.

Eficiencia catalítica, k_{cat}/K_m

¿Mediante qué medida se deben cuantificar y comparar la eficiencia de enzimas diferentes, sustratos diferentes para una enzima dada, y la eficiencia con la cual una enzima cataliza una reacción en las

direcciones hacia adelante y hacia atrás? Si bien la capacidad máxima de una enzima dada para convertir sustrato en producto es importante, los beneficios de una k_{cat} alta sólo pueden obtenerse si la K_m es suficientemente baja. De este modo, la *eficiencia catalítica* de enzimas se expresa mejor en términos de la proporción de estas dos constantes cinéticas, k_{cat}/K_m.

Para ciertas enzimas, una vez que el sustrato se une al sitio activo, se convierte en producto y se libera con tanta rapidez como para hacer a tales eventos efectivamente instantáneos. Para estos catalíticos tan eficientes, el paso limitante es la formación del complejo ES. Se dice que esas enzimas están *limitadas por difusión*, o que son perfectas desde el punto de vista catalítico, puesto que el índice de catálisis más rápido posible está determinado por el índice al cual las moléculas se mueven o difunden a través de la solución. Los ejemplos de enzimas para las cuales k_{cat}/K_m se aproxima al límite de difusión de 10^8–10^9 $M^{-1}s^{-1}$ incluyen la triosafosfato isomerasa, anhidrasa carbónica, acetilcolinesterasa y adenosina desaminasa.

La naturaleza a menudo sortea las limitaciones sobre k_{cat}/K_m impuestas por la difusión al montar grupos de enzimas relacionadas para formar complejos de múltiples enzimas. Las relaciones geométricas de las enzimas en estos complejos son tales que no se permite que los sustratos y productos se difundan hacia la solución de volumen sino hasta que el último paso en la secuencia de pasos catalíticos esté completo. La ácido graso sintetasa extiende este concepto un paso más allá al fijar de manera covalente el sustrato a una cadena de biotina que rota un sitio activo a otro dentro del complejo hasta que se completa la síntesis de una molécula de ácido palmítico (cap. 23).

La K_m puede aproximar una constante de unión

La afinidad de una enzima por su sustrato es la inversa de la constante de disociación K_d para la disociación del complejo de enzima-sustrato ES.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (38)$$

$$K_d = \frac{k_{-1}}{k_1} \qquad (39)$$

Dicho de otra manera, mientras menor es la tendencia a *disociarse* de la enzima y su sustrato, *mayor* es la afinidad de la enzima por su sustrato. Si bien la constante de Michaelis K_m a menudo aproxima la constante de disociación K_d, esto de ningún modo siempre es así. Para una reacción catalizada por enzima típica,

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (40)$$

el valor de [S] que da $v_i = V_{máx}/2$ es

$$[S] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \qquad (41)$$

Cuando $k_{-1} >> k_2$, entonces

$$k_{-1} + k_2 \approx k_{-1} \qquad (42)$$

y

$$[S] \approx \frac{k_1}{k_{-1}} = K_d \qquad (43)$$

Por ende, $1/K_m$ sólo aproxima $1/K_d$ en condiciones en las cuales la asociación y disociación del complejo ES son rápidas en comparación con la catálisis. Para las muchas reacciones catalizadas por enzima para las cuales $k_{-1} + k_2$ *no* es aproximadamente igual a k_{-1}, $1/K_m$ subestimará $1/K_d$.

La ecuación de Hill describe la conducta de enzimas que muestran unión cooperativa de sustrato

Si bien casi todas las enzimas despliegan la **cinética de saturación** simple descrita en la figura 8-4, y se describen de manera adecuada mediante la expresión de Michaelis-Menten, algunas se unen a sus sustratos de una manera *cooperativa*, análoga a la unión de oxígeno por la hemoglobina (cap. 6). La conducta cooperativa es una propiedad exclusiva de enzimas multiméricas que unen sustrato en múltiples sitios.

Para enzimas que despliegan cooperación positiva en la unión de sustrato, la forma de la curva que relaciona los cambios en v_i con los cambios en [S] es sigmoidea (fig. 8-7). Ni la expresión de Michaelis-Menten ni sus gráficos derivados pueden usarse para evaluar cinética cooperativa. Por ende, los enzimólogos emplean una representación gráfica de la **ecuación de Hill** que en su origen fue obtenida para describir la unión cooperativa de O_2 por la hemoglobina. La ecuación (44) representa la ecuación de Hill dispuesta en una forma que predice una línea recta, donde k′ es una constante compleja.

$$\frac{\log v_i}{V_{máx} - v_i} = n \log [S] - \log k' \qquad (44)$$

La ecuación (44) declara que cuando [S] es bajo en comparación con k′, la velocidad de reacción inicial aumenta como la enésima potencia de [S].

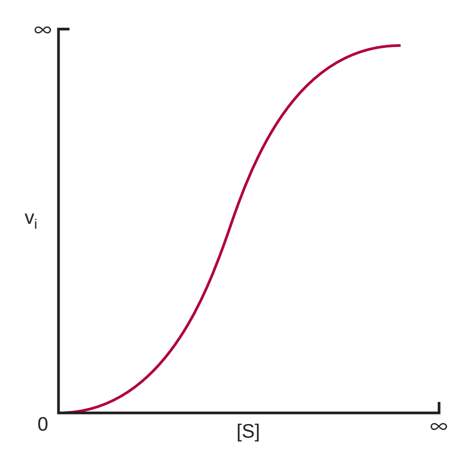


FIGURA 8-7 Representación de una cinética de saturación de sustrato sigmoidea.

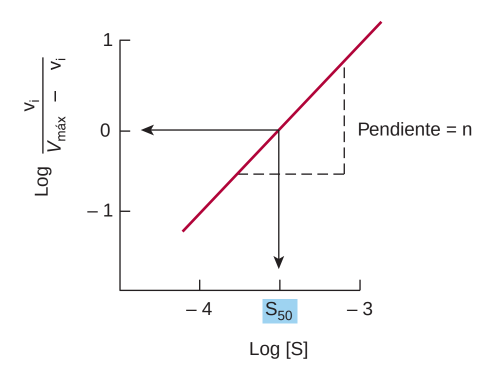


FIGURA 8-8 Representación gráfica de una forma lineal de la ecuación de Hill usada para evaluar S_{50}, la concentración de sustrato que produce la mitad de la velocidad máxima, y el grado de cooperación **n.**

Un gráfico de log $v_i/(V_{máx} - v_i)$ contra log[S] da una línea recta (fig. 8-8), donde la pendiente de la línea **n** es el **coeficiente de Hill**, y un parámetro empírico cuyo valor está en función del número, la clase y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato múltiples sobre la enzima. Cuando n = 1, todos los sitios de unión se comportan de manera independiente, y se observa conducta cinética de Michaelis-Menten simple. Si n es de más de 1, se dice que la enzima muestra cooperación positiva. La unión de sustrato a un sitio aumenta entonces la afinidad de los sitios restantes para unión a sulfato adicional. Mientras mayor es el valor para n, más alto es el grado de cooperación, y más sigmoideo será el gráfico de v_i contra [S]. Una perpendicular trazada desde el punto donde el término *y* log $v_i/(V_{máx} - v_i)$ es cero interseca el eje *x* en una concentración de sustrato llamada $\mathbf{S_{50}}$, la concentración de sustrato que da por resultado la mitad de la velocidad máxima. De este modo, S_{50} es análoga a la P_{50} para la unión de oxígeno a hemoglobina (cap. 6).

EL ANÁLISIS CINÉTICO DISTINGUE ENTRE INHIBICIÓN COMPETITIVA Y NO COMPETITIVA

Los inhibidores de las actividades catalíticas de enzimas proporcionan tanto agentes farmacológicos como recursos de investigación para estudiar el mecanismo de acción de las enzimas. La fuerza de la interacción entre un inhibidor y una enzima depende de las fuerzas importantes en la estructura de proteína y la unión de ligando (enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals; cap. 5). Los inhibidores pueden clasificarse con base en su sitio de acción en la enzima, en si producen modificación química de la enzima, o en los parámetros de cinética sobre los cuales influyen. Los compuestos que imitan el estado de transición de una reacción catalizada por enzima (análogos de estado de transición) o que aprovechan la maquinaria catalítica de una enzima (inhibidores basados en mecanismo) pueden ser inhibidores en particular potentes. Desde el punto de vista cinético, se distinguen dos clases de inhibidores con base en si el aumento de la concentración de sustrato supera o no la inhibición.

Los inhibidores competitivos típicamente semejan sustratos

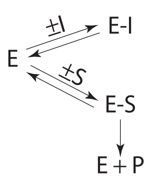
Los efectos de los inhibidores competitivos pueden superarse al aumentar la concentración de sustrato. Con mayor frecuencia, la inhibición competitiva del inhibidor **(I)** se une a la porción de unión a sustrato del sitio activo, lo que bloquea el acceso por el sustrato. Por ende, las estructuras de casi todos los inhibidores competitivos clásicos tienden a asemejarse a las estructuras de un sustrato y, así, se llaman **análogos de sustrato**. La inhibición de la enzima succinato deshidrogenasa por el malonato ilustra la inhibición competitiva por un análogo de sustrato. La succinato deshidrogenasa cataliza la eliminación de un átomo de hidrógeno de cada uno de los dos carbonos metileno del succinato (fig. 8-9). Tanto el succinato como su análogo estructural malonato ($^{-}OOC—CH_2—COO^{-}$) pueden unirse al sitio activo de la succinato deshidrogenasa, lo que forma un complejo ES o uno EI, respectivamente. Sin embargo, dado que el malonato sólo contiene un átomo de metileno, no puede pasar por deshidrogenación. La formación y disociación del complejo EI es un proceso dinámico descrito por

$$E-I \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} E + I \qquad \textbf{(45)}$$

para la cual la constante de equilibrio K_i es

$$K_i = \frac{[E][I]}{[E-I]} = \frac{k_i}{k_{-i}} \qquad \textbf{(46)}$$

En efecto, un **inhibidor competitivo actúa al disminuir el número de moléculas de enzima libres disponibles para unión a sustrato, esto es, para formar ES y, así, finalmente para formar producto,** como se describe a continuación:



Un inhibidor competitivo y sustrato ejercen efectos recíprocos sobre la concentración de los complejos EI y ES. Dado que la formación de complejos ES elimina la enzima libre disponible para combinarse con el inhibidor, el aumento de [S] disminuye la concentración del complejo EI y aumenta la velocidad de reacción. El grado al cual [S] debe aumentarse para superar por completo la inhibición depende de la concentración del inhibidor presente, su afinidad por la enzima, K_i, y la afinidad, K_m, de la enzima por su sustrato.

Succinato ($H—C(H)(COO^-)—C(H)(H)—COO^-$) —2H, Succinato deshidrogenasa → Fumarato ($H—C(COO^-)=C(H)—^-OOC$)

FIGURA 8-9 Reacción de succinato deshidrogenasa.

Los gráficos del doble recíproco facilitan la evaluación de inhibidores

Los gráficos del doble recíproco distinguen entre inhibidores competitivos y no competitivos, y simplifican la evaluación de constantes de inhibición. La v_i se determina a varias concentraciones de sustrato tanto en presencia como en ausencia de inhibidor. Para la inhibición competitiva clásica, las líneas que conectan los puntos experimentales convergen en el eje *y* (fig. 8-10). Dado que la intersección *y* es igual a $1/V_{máx}$, este modelo indica que **cuando 1/[S] se aproxima a 0, v_i es independiente de la presencia de inhibidor**. Sin embargo, note que la intersección en el eje *x* no varía con la concentración del *inhibidor* y que puesto que $-1/K'_m$ es de menor tamaño que $1/K_m$, K'_m (la "K_m aparente"), se hace más grande en presencia de concentraciones cada vez mayores del inhibidor. De este modo, **un inhibidor competitivo no tiene efecto sobre $V_{máx}$ pero aumenta K'_m, la K_m aparente para el sustrato**. Para la inhibición competitiva simple, la intersección en el eje *x* es

$$x = \frac{-1}{K_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \quad (47)$$

Una vez que K_m se ha determinado en ausencia de inhibidor, K_i puede calcularse a partir de la ecuación (47). Los valores de K_i se usan para comparar diferentes inhibidores de la misma enzima. Mientras más bajo es el valor para K_i, más eficaz es el inhibidor. Por ejemplo, los fármacos estatina que actúan como inhibidores competitivos de la HMG-CoA reductasa (cap. 26) tienen valores de K_i de varios órdenes de magnitud más bajos que la K_m para el sustrato HMG-CoA.

Los inhibidores no competitivos simples disminuyen $V_{máx}$ pero no afectan K_m

En la inhibición no competitiva, la unión del inhibidor no afecta la unión de sustrato, por ende, es factible la formación de complejos tanto EI como EIS. Sin embargo, si bien el complejo inhibidor de enzima aún puede unirse a sustrato, su eficiencia para transformar sustrato en producto, reflejada por $V_{máx}$, está disminuida. Los inhibidores no competitivos unen enzimas en sitios distintos del sitio de unión a sustrato y, por lo general, muestran poca o ninguna semejanza estructural con el sustrato.

Para la inhibición no competitiva simple, E y EI poseen afinidad idéntica por el sustrato, y el complejo EIS genera producto a un índice insignificante (fig. 8-11). La inhibición no competitiva más compleja ocurre cuando la unión del inhibidor *afecta* la afinidad aparente de la enzima por el sustrato, lo que hace que las líneas se intersequen en el tercero o cuarto cuadrantes de un gráfico del doble recíproco (que no se muestra). Si bien ciertos inhibidores muestran características de una mezcla de inhibición competitiva y no competitiva, la evaluación de estos inhibidores va más allá del objetivo de este capítulo.

Gráfico de Dixon

A veces se emplea como una alternativa para el gráfico de Lineweaver-Burk, para determinar constantes de inhibición. La velocidad inicial (v_i) se mide a varias concentraciones de inhibidor, pero a una concentración fija de sustrato (S). Para un inhibidor competitivo o no competitivo simple, un gráfico de $1/v_i$ contra la concentración del inhibidor [I] da una línea recta. El experimento se repite a diferentes concentraciones fijas de sustratos. El conjunto de líneas resultantes interseca a la izquierda del eje *y*. Para inhibición *competitiva*, una perpendicular trazada hacia el eje *x* negativo desde el punto de intersección de las líneas da $-K_i$ (fig. 18-12, arriba). Para inhibición *no competitiva* la intersección del eje *x* negativo es $-K_i$ (fig. 8-12, abajo). En las publicaciones farmacéuticas a menudo se emplean gráficos de Dixon para evaluar la potencia comparativa de inhibidores competitivos.

IC_{50}

Una alternativa menos rigurosa, pero de uso frecuente, para K_i como una medida de la potencia inhibidora es la concentración de inhibidor que produce inhibición de 50%, **IC_{50}**. Al contrario de la constante de disociación de equilibrio K_i, el valor numérico de IC_{50} varía en función de las circunstancias específicas de la concentración de sustratos, etc., bajo la cual se determina.

Inhibidores estrechamente unidos

Algunos inhibidores se unen a enzimas con afinidad tan alta, $K_i \leq 10^{-9}$ M, que la concentración de inhibidor requerida para medir K_i cae por debajo de la concentración de enzima típicamente presente

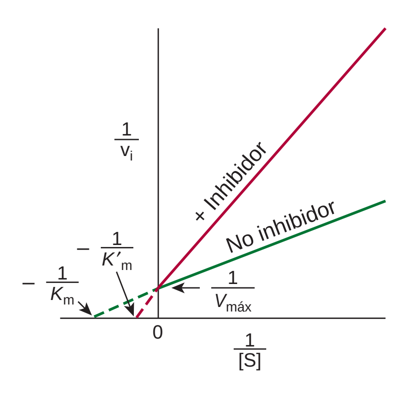


FIGURA 8-10 Gráfico de Lineweaver-Burk de inhibición competitiva. Note la completa distensión de inhibición a [S] alta (esto es, 1/[S] baja).

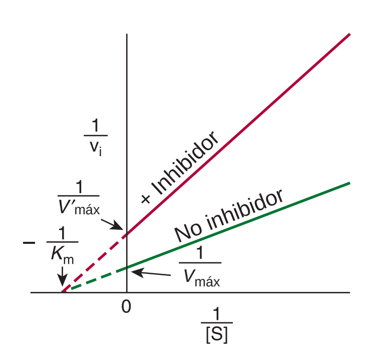


FIGURA 8-11 Gráfico de Lineweaver-Burk para inhibición no competitiva simple.

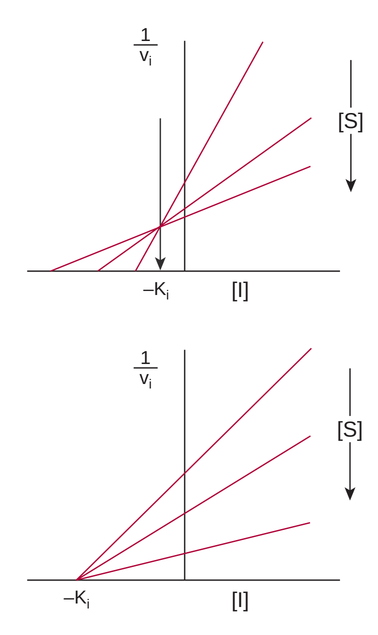


FIGURA 8-12 Aplicaciones de los gráficos de Dixon. **Arriba:** inhibición competitiva, estimación de K_i. **Abajo:** inhibición no competitiva, estimación de K_i.

en una valoración. En estas circunstancias, una fracción importante del inhibidor total puede estar presente como un complejo EI. De ser así, esto viola la suposición, implícita en cinética de estado estable clásica, de que la concentración de inhibidor libre es independiente de la concentración de enzima. El análisis cinético de estos inhibidores muy unidos requiere ecuaciones cinéticas especializadas que incorporan la concentración de enzima para estimar K_i o IC_{50}, y para distinguir entre inhibidores competitivos y no competitivos estrechamente unidos.

Los inhibidores irreversibles "envenenan" enzimas

En los ejemplos anteriores, los inhibidores forman un complejo disociable, dinámico, con la enzima; por ende, la enzima por completo activa puede recuperarse con tan sólo eliminar el inhibidor del medio circundante. Sin embargo, varios otros inhibidores actúan de manera irreversible al producir modificación química de la enzima. Estas modificaciones, por lo general, comprenden hacer o romper enlaces covalentes con residuos aminoacilo esenciales para la unión a sustrato, catálisis o mantenimiento de la conformación funcional de la enzima. Dado que estos cambios covalentes son hasta cierto punto estables, una enzima que ha sido "envenenada" por un inhibidor irreversible, como un átomo de metal pesado o un reactivo acilante, permanece inhibida incluso después de eliminar del medio circundante el inhibidor que resta.

Inhibición basada en mecanismo

Los inhibidores "basados en mecanismo" o "suicidas" son análogos de sustrato especializados que contienen un grupo químico que puede transformarse mediante la maquinaria catalítica de la enzima blanco. Después de la unión al sitio activo, la catálisis por la enzima genera un grupo muy reactivo que forma un enlace covalente con un residuo esencial desde el punto de vista catalítico, y bloquea la función del mismo. La especificidad y la persistencia de inhibidores suicidas, que son tanto específicos para enzima como no reactivos fuera de los confines del sitio activo de la enzima, los hacen promisorios para la creación de fármacos específicos para enzima. El análisis cinético de inhibidores suicidas está más allá del objetivo de este capítulo. Ni el método de Lineweaver-Burk ni el de Dixon son aplicables porque los inhibidores suicidas violan una condición limítrofe clave común a ambos métodos, a saber, que la actividad de la enzima no disminuye en el transcurso de la valoración.

CASI TODAS LAS REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA COMPRENDEN DOS O MÁS SUSTRATOS

Si bien muchas enzimas tienen un sustrato único, muchas otras tienen dos —y a veces más— sustratos y productos. Los principios fundamentales, antes comentados, si bien se ilustran para enzimas con un sustrato único, también aplican a enzimas con múltiples sustratos. Sin embargo, las expresiones matemáticas utilizadas para evaluar reacciones de múltiples sustratos son complejas. Aun cuando un análisis detallado del rango completo de reacciones de múltiples sustratos va más allá del objetivo de este capítulo, a continuación se consideran algunos aspectos comunes de conducta cinética para reacciones de dos sustratos y dos productos (llamadas reacciones "Bi-Bi").

Reacciones secuenciales o de desplazamiento único

En **reacciones secuenciales**, ambos sustratos deben combinarse con la enzima para formar un complejo ternario antes de que pueda proceder la catálisis (fig. 8-13, arriba). Las reacciones secuenciales a veces reciben el nombre de reacciones de desplazamiento único porque el grupo que se está transfiriendo por lo general pasa de manera directa, en un solo paso, desde un sustrato hacia el otro. Las reacciones Bi-Bi secuenciales pueden distinguirse más con base en si los dos sustratos se agregan en un orden **al azar** o en uno **forzoso**. Para reacciones de orden al azar, el sustrato A o el B puede combinarse primero con la enzima para formar un complejo EA o uno EB (fig. 8-13, centro). En reacciones de orden forzoso, A debe combinarse primero con E antes de que B pueda combinarse con el complejo EA. Una explicación para un mecanismo de orden forzoso es que la adición de A induce un cambio conformacional en la enzima que alinea residuos que reconocen B y se unen al mismo.

Reacciones de ping-pong

El término **"ping-pong"** aplica a mecanismos en los cuales uno o más productos son liberados desde la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos. Las reacciones de ping-pong comprenden catálisis covalente y una forma transitoria, modificada, de la enzima (fig. 7-4). Las reacciones Bi-Bi de ping-pong son **reacciones de doble desplazamiento**. El grupo que se transfiere primero es desplazado del sustrato A por la enzima para formar productos P y una forma modificada de la enzima (F). La transferencia de grupo subsiguiente desde F hacia el segundo sustrato B, que forma el pro-

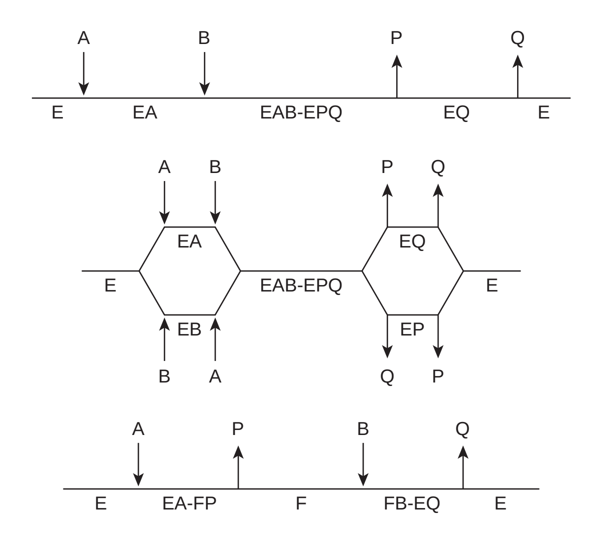


FIGURA 8-13 Representaciones de tres clases de mecanismos de reacción Bi-Bi. Las líneas horizontales representan la enzima. Las flechas indican la adición de sustratos y la salida de productos. **Arriba:** una reacción Bi-Bi ordenada, característica de muchas oxidorreductasas dependientes de NAD(P)H. **Centro:** una reacción Bi-Bi al azar, característica de muchas cinasas y algunas deshidrogenasas. **Abajo:** una reacción de ping-pong, característica de aminotransferasas y serina proteasas.

ducto Q y regenera E, constituye el segundo desplazamiento (fig. 8-13, abajo).

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a la cinética de Michaelis-Menten

Casi todas las reacciones Bi-Bi se conforman a una forma un poco más compleja de cinética de Michaelis-Menten, en la cual $V_{máx}$ se refiere al índice de reacción que se alcanza cuando ambos sustratos están presentes a concentraciones que producen saturación. Cada sustrato tiene su propio valor K_m característico, que corresponde a la concentración que da la mitad de la velocidad máxima cuando el segundo sustrato está presente a concentraciones que producen saturación. Al igual que para las reacciones de un solo sustrato, pueden usarse gráficos del doble recíproco para determinar $V_{máx}$ y K_m. La v_i se mide como una función de la concentración de un sustrato (el sustrato variable), mientras que la concentración del otro sustrato (el sustrato fijo) se mantiene constante. Si las líneas obtenidas para varias concentraciones de sustrato fijo se grafican en el mismo gráfico, es posible distinguir entre una enzima ping-pong, que da líneas paralelas, y un mecanismo secuencial, que da un modelo de líneas que se intersecan (fig. 8-14).

Los estudios de inhibición del producto se usan para complementar análisis cinéticos y distinguir entre reacciones Bi-Bi ordenadas y al azar. Por ejemplo, en una reacción Bi-Bi ordenada al azar, cada producto será un inhibidor competitivo al margen de cuál sustrato es designado como el sustrato variable. Sin embargo, para un mecanismo secuencial (fig. 8-13, arriba), sólo el producto Q dará el modelo indicativo de inhibición competitiva cuando A es el sustrato variable, mientras que sólo el producto P producirá este modelo con B como el sustrato variable. Otras combinaciones de inhibidor del producto y sustrato variable producirán formas de inhibición no competitiva compleja.

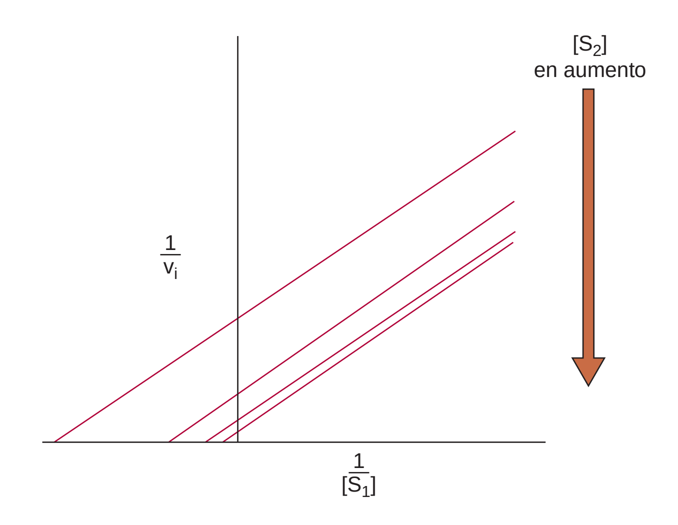


FIGURA 8-14 Gráfico de Lineweaver-Burk para una reacción de ping-pong de dos sustratos. Un aumento de la concentración de un sustrato (S_1) mientras que de la del otro sustrato (S_2) se mantiene constante, cambia las intersecciones *x* y *y*, no así la pendiente.

EL CONOCIMIENTO DE LA CINÉTICA, EL MECANISMO Y LA INHIBICIÓN DE ENZIMAS, AYUDAN A LA CREACIÓN DE FÁRMACOS

Muchos fármacos actúan como inhibidores de enzimas

El objetivo de la farmacología es identificar agentes que pueden

1. Destruir o alterar el crecimiento, la invasividad o el desarrollo de agentes patógenos invasores
2. Estimular mecanismos de defensa endógenos
3. Suspender u obstaculizar procesos moleculares aberrantes desencadenados por estímulos genéticos, ambientales o biológicos, con trastorno mínimo de las funciones celulares normales del huésped.

En virtud de sus diversas funciones fisiológicas y alto grado de selectividad de sustrato, las enzimas constituyen blancos naturales para la creación de fármacos que son tanto potentes como específicos. Los fármacos estatina, por ejemplo, disminuyen la producción de colesterol al inhibir la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (cap. 26), mientras que la emtricitabina y el tenofovir disoproxil fumarato bloquean la replicación del VIH al inhibir una inverso transcriptasa viral (cap. 34). La farmacoterapia de la hipertensión a menudo incluye la administración de un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, lo que disminuye la concentración de angiotensina II, un vasoconstrictor (cap. 42).

La cinética enzimática define condiciones de investigación apropiadas

La cinética enzimática tiene un papel crucial en el descubrimiento de fármacos. El conocimiento de la conducta cinética de la enzima de interés se necesita, ante todo, para seleccionar condiciones

de valoración apropiadas que detectan con facilidad la presencia de un inhibidor. La concentración de sustrato, por ejemplo, debe ajustarse de modo que se genere suficiente producto para permitir la detección fácil de actividad de la enzima sin que sea tan alta que enmascare la presencia de un inhibidor. Además, la cinética enzimática proporciona el medio para cuantificar y comparar la potencia de diferentes inhibidores y definir su modo de acción. Los inhibidores no competitivos son, en particular, deseables, porque —en contraste con los competitivos— sus efectos nunca pueden superarse por completo mediante incrementos de la concentración de sustrato.

Muchos fármacos se metabolizan *in vivo*

La creación de fármacos a menudo comprende más que la evaluación cinética de la interacción de inhibidores con la enzima blanco. Enzimas presentes en el paciente o en el agente patógeno actúan sobre fármacos, dicho proceso se denomina **metabolismo de fármaco**. Por ejemplo, la penicilina y otros antibióticos β-lactámicos bloquean la síntesis de la pared celular en bacterias al envenenar de manera irreversible la enzima alanil alanina carboxipeptidasa-transpeptidasa. Sin embargo, muchas bacterias producen β-lactamasas que hidrolizan la función β-lactámica crucial en la penicilina y fármacos relacionados. Una estrategia para superar la resistencia al antibiótico resultante es administrar de manera simultánea un inhibidor de β-lactamasa y un antibiótico β-lactámico.

También se requiere transformación metabólica para convertir un precursor farmacológico inactivo, o **profármaco**, en su forma biológicamente activa (cap. 53). El ácido 2′-desoxi-5-fluorouridílico, un potente inhibidor de la timidilato sintasa, un blanco común de la quimioterapia de cáncer, se produce a partir de 5-fluorouracilo por medio de una serie de transformaciones enzimáticas catalizadas por una fosforribosil transferasa y las enzimas de la vía de salvamento de desoxirribonucleósido (cap. 33). El diseño y la administración eficaces de profármacos requieren conocimiento de la cinética y de los mecanismos de las enzimas encargadas de transformarlos en sus formas biológicamente activas.

RESUMEN

- El estudio de la cinética enzimática —los factores que afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima— revela los pasos individuales mediante los que las enzimas transforman sustratos en productos.
- La ΔG, el cambio general de la energía libre para una reacción, es independiente del mecanismo de reacción, y no proporciona información respecto a los *índices* de reacciones.
- Las enzimas no afectan la K_{eq}; esta última, una proporción de *constantes de índice* de reacción, se calcula a partir de las concentraciones de sustratos y productos en equilibrio, o a partir de la proporción k_1/k_{-1}.
- Las reacciones proceden por medio de estados de transición en los cuales ΔG_F es la energía de activación. La temperatura, la concentración de ion hidrógeno, la concentración de enzima, la concentración de sustrato y los inhibidores, afectan los índices de reacciones catalizadas por enzima.
- En la medición del índice de una reacción catalizada por enzima por lo general se emplean condiciones de índice iniciales, para las cuales la ausencia esencial de producto impide la reacción inversa.
- Las formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten simpli can la determinación de K_m y $V_{máx}$.
- Una forma lineal de la ecuación de Hill se usa para evaluar la cinética de unión a sustrato cooperativa mostrada por algunas enzimas multiméricas. La pendiente n, el coe ciente de Hill, re eja el número, la naturaleza y la fuerza de las interacciones de los sitios de unión a sustrato. Un valor de n de más de 1 indica cooperación positiva.
- Los efectos de inhibidores competitivos simples, que por lo general semejan sustratos, se superan al aumentar la concentración del sustrato. Los inhibidores no competitivos simples disminuyen la $V_{máx}$ pero no afectan la K_m.
- Para inhibidores competitivos y no competitivos simples, la constante inhibitoria K_i es igual a la constante de disociación de equilibrio para el complejo de enzima-inhibidor relevante. Un término más simple y menos riguroso para evaluar la e cacia de un inhibidor es la IC_{50}, la concentración del inhibidor que produce inhibición de 50% en las circunstancias particulares del experimento.
- Los sustratos pueden añadirse en un orden al azar (cualquier sustrato puede combinarse primero con la enzima) y en un orden forzoso (el sustrato A debe unirse antes que el sustrato B).
- En reacciones de ping-pong, uno o más productos se liberan a partir de la enzima antes de que se hayan añadido todos los sustratos.
- La cinética enzimática aplicada facilita la identi cación y caracterización de fármacos que inhiben de manera selectiva enzimas especí cas. De este modo, la cinética enzimática desempeña una función crucial en el descubrimiento de fármacos, en la farmacodinámica comparativa, y en la determinación del modo de acción de fármacos.

REFERENCIAS

Dixon M: e determination of enzyme inhibitor constants. Biochem J 1953;55:170.

Dixon M: e graphical determination of K_m and K_i. Biochem J 1972;129:197.

Fersht A: *Structure and Mechanism in Protein Science*: *A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding*. Freeman, 1999.

Fraser CM, Rappuoli R: Application of microbial genomic science to advanced therapeutics. Annu Rev Med 2005;56:459.

Henderson PJF: A linear equation that describes the steady-state kinetics of enzymes and subcellular particles interacting with tightly bound inhibitors. Biochem J 1972;127:321.

Schramm, VL: Enzymatic transition-state theory and transition-state analogue design. J Biol Chem 2007;282:28297.

Schultz AR: *Enzyme Kinetics*: *From Diastase to Multi-enzyme Systems.* Cambridge University Press, 1994.

Segel IH: *Enzyme Kinetics*. Wiley Interscience, 1975.

Wlodawer A: Rational approach to AIDS drug design through structural biology. Annu Rev Med 2002;53:595.

C A P Í T U L O

9

Enzimas: regulación de actividades

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El fisiólogo del siglo xix Claude Bernard enunció la base conceptual para la regulación metabólica. Observó que los organismos vivos responden de modos apropiados tanto cuantitativo como temporalmente para permitirles sobrevivir a los múltiples desafíos planteados por cambios de sus ambientes externo e interno. Después, Walter Cannon acuñó el término "homeostasis" para describir la capacidad de los animales para mantener un ambiente intracelular constante a pesar de los cambios en su ambiente externo. Ahora se sabe que los organismos responden a cambios en sus ambientes externo e interno por medio de ajustes balanceados y coordinados de los índices de reacciones metabólicas específicas. Las perturbaciones de la maquinaria de estímulo-respuesta, de la cual depende el mantenimiento del equilibrio homeostático, pueden ser nocivas para la salud de seres humanos. El cáncer, la diabetes, la fibrosis quística y la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, se caracterizan por disfunciones de la regulación desencadenadas por agentes patógenos o mutaciones genéticas. Muchos virus oncogénicos elaboran tirosina cinasas de proteínas que modifican los eventos reguladores que controlan los modelos de expresión de gen, lo que contribuye al inicio de cáncer y la progresión del mismo. La toxina de *Vibrio cholerae*, el agente causal del cólera, inhabilita vías de estímulo-respuesta en las células del epitelio intestinal al producir ADP-ribosilación de las proteínas de unión a GTP (proteínas G) que enlazan receptores de la adenilil ciclasa en la superficie celular. La activación consiguiente de la ciclasa conduce al flujo irrestricto de agua a los intestinos, lo que resulta en diarrea masiva y deshidratación. *Yersinia pestis*, el agente causal de la peste, elabora una proteína-tirosina fosfatasa que hidroliza grupos fosforilo en proteínas clave del citoesqueleto. Se cree que las disfunciones en los sistemas proteolíticos de los cuales depende la degradación de proteínas defectuosas o anormales, participan en enfermedades neurodegenerativas, como la de Alzheimer y la de Parkinson. Así, el conocimiento de los factores que controlan los índices de reacciones catalizadas por enzima es esencial para un entendimiento de la base molecular de la enfermedad. Este capítulo esboza los modelos mediante los cuales se controlan los procesos metabólicos y proporciona ejemplos ilustrativos. Capítulos subsiguientes ofrecen más ejemplos.

LA REGULACIÓN DEL FLUJO DE METABOLITOS PUEDE SER ACTIVA O PASIVA

Las enzimas que operan a su velocidad máxima no pueden mostrar respuesta a un aumento de la concentración de sustrato, y sólo pueden hacerlo a una disminución precipitada de la misma. En consecuencia, los valores de K_m para casi todas las enzimas tienden a ser cercanos a la concentración intracelular promedio de sus sustratos, de modo que los cambios de la concentración de sustrato generan cambios correspondientes del flujo de metabolitos (fig. 9-1). Las respuestas a cambios de la concentración de sustrato representan un medio importante pero *pasivo* para coordinar el flujo de metabolitos y mantener la homeostasis en células quiescentes. Sin embargo, ofrecen un alcance limitado para mostrar respuesta a cambios en variables ambientales. A continuación se comentan los mecanismos que regulan la eficiencia de las enzimas de una manera *activa* en respuesta a señales internas y externas.

El flujo de metabolitos tiende a ser unidireccional

Pese a la existencia de oscilaciones a corto plazo de las concentraciones de metabolitos y de enzimas, las células vivas existen en un estado dinámico de reposo en el cual las concentraciones medias de intermediarios metabólicos permanecen relativamente constantes con el tiempo (fig. 9-2). Aun cuando todas las reacciones químicas son hasta cierto grado reversibles, en las células vivas los productos de reacción sirven como sustratos para —y son eliminados por— otras reacciones catalizadas por enzima. De este modo, muchas reacciones nominalmente reversibles ocurren de manera unidireccional. Tal sucesión de reacciones metabólicas acopladas se acompaña de un cambio global de la energía libre que favorece el flujo unidireccional de metabolitos (cap. 11). El flujo unidireccional de metabolitos a través de una vía con un cambio negativo global grande en energía libre es análogo al flujo de agua a través de una tubería en la cual un extremo está más bajo que el otro. Las vueltas y codos en la tubería simulan pasos individuales catalizados por enzima con un cambio pequeño negativo o positivo de la energía libre. Empero, el flujo de agua a través de la tubería permanece unidireccional debido al cambio general de altura, que corresponde al cambio general de la energía libre en una vía (fig. 9-3).

LA COMPARTAMENTALIZACIÓN ASEGURA EFICIENCIA METABÓLICA Y SIMPLIFICA LA REGULACIÓN

En eucariotas, las vías anabólicas y catabólicas que interconvierten productos comunes pueden tener lugar en compartimientos subcelulares específicos. Por ejemplo, muchas de las enzimas que degra-

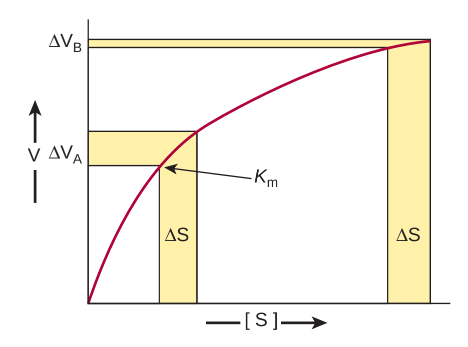


FIGURA 9-1 Respuesta diferencial del índice de una reacción catalizada por enzima, ΔV, al mismo cambio creciente de la concentración de sustrato, a una concentración de sustrato de K_m (ΔV_A) o muy por arriba de la K_m (ΔV_B).

dan proteínas y polisacáridos residen dentro de organelos denominados lisosomas. De modo similar, la biosíntesis de ácidos grasos ocurre en el citosol, mientras que la oxidación de ácidos grasos tiene lugar dentro de las mitocondrias (caps. 22 y 23). La segregación de ciertas vías metabólicas dentro de tipos de células especializados puede proporcionar compartamentalización física adicional. De manera alternativa, la posesión de uno o más *intermediarios únicos* puede permitir que vías que al parecer se oponen coexistan incluso en ausencia de barreras físicas. Por ejemplo, a pesar de muchos intermediarios y enzimas compartidos, tanto la glucólisis como la gluconeogénesis son favorecidas desde el punto de vista energético. Esto podría no ser cierto si *todas* las reacciones fueran iguales. Si una vía se favoreciera en el aspecto energético, la otra se acompañaría de un cambio de la energía libre ΔG de igual magnitud pero con signo opuesto. La espontaneidad simultánea en ambas vías depende de la sustitución de una o más reacciones por otras diferentes favorecidas desde el punto de vista termodinámico en la dirección opuesta. La enzima glucolítica fosfofructocinasa (cap. 18) es remplazada por la enzima gluconeogénica fructosa-1,6-bisfosfatasa (cap. 20). La capacidad de las enzimas para distinguir entre las coenzimas similares en el aspecto estructural NAD^+ y $NADP^+$ también origina una forma de compartimentalización, porque segrega los electrones del NADH que están destinados para la generación de ATP a partir de los del NADPH que participan en los pasos reductivos en muchas vías biosintéticas.

El control de una enzima que cataliza una reacción limitante regula una vía metabólica completa

Si bien el flujo de metabolitos a través de vías metabólicas incluye catálisis por muchas enzimas, el control activo de la homeostasis se logra por medio de regulación de únicamente un subgrupo selecto de estas enzimas. La enzima ideal para intervención reguladora es aquella cuya cantidad o eficiencia catalítica dicta que la reacción que cataliza sea lenta en comparación con todas las otras en la vía. Por ende, el decremento de la eficiencia catalítica o de la cantidad del catalizador para la **reacción limitante de la velocidad** (o "cuello de botella"**)**, reduce el flujo de metabolitos por toda la vía. A la inversa, un incremento de su cantidad o eficiencia catalítica aumenta el flujo a través de la vía en conjunto. Por ejemplo, la acetil-CoA carboxilasa cataliza la síntesis de malonil-CoA, la primera reacción comprometida de la biosíntesis de ácidos grasos (cap. 23). Cuando se inhibe la síntesis de malonil-CoA, las reacciones subsiguientes de la síntesis de ácidos grasos cesan por falta de sustratos. Como "rectoras" naturales del flujo metabólico, las enzimas que catalizan pasos limitantes constituyen blancos eficientes para intervención reguladora mediante fármacos. Por ejemplo, la inhibición por medicamentos tipo "estatina" de la HMG-CoA reductasa, que cataliza la reacción limitante de la colesterogénesis, restringe la síntesis de colesterol.

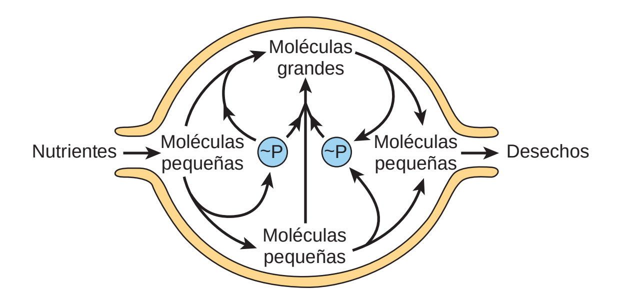


FIGURA 9-2 Célula idealizada en estado de equilibrio dinámico. Note que el flujo de metabolitos es unidireccional.

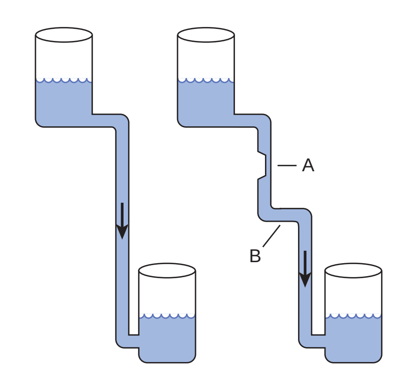


FIGURA 9-3 Analogía hidrostática para una vía con un paso limitante de la velocidad (A) y un paso con un valor de ΔG cercano a cero (B).

REGULACIÓN DE LA CANTIDAD DE ENZIMA

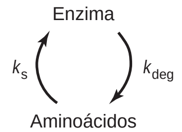
La capacidad catalítica de la reacción limitante en una vía metabólica es el producto de la concentración de moléculas de enzima y su eficiencia catalítica intrínseca. Por ende, resulta que la capacidad catalítica puede influir tanto al cambiar la cantidad de enzima presente como al alterar su eficiencia catalítica intrínseca.

Las proteínas se sintetizan y degradan de manera continua

Al medir las tasas de incorporación de los aminoácidos ^{15}N marcados hacia proteínas, y los índices de pérdida de ^{15}N desde proteína, Schoenheimer dedujo que las proteínas del cuerpo se encuentran en un estado de "equilibrio dinámico" en el cual se están sintetizando y degradando de manera continua, proceso llamado **recambio de proteína**. Aun cuando las concentraciones de estado de equilibrio de algunas enzimas y otras proteínas permanecen en esencia constantes, o **constitutivas**, con el tiempo las concentraciones de mu-

chas enzimas están influidas por una amplia gama de factores fisiológicos, hormonales o de la dieta.

La cantidad absoluta de una enzima refleja el balance neto entre sus índices de síntesis y de degradación. En seres humanos, las alteraciones de las cifras de enzimas específicas pueden estar afectadas por un cambio de la constante de índice para los procesos generales de síntesis (k_s), degradación (k_{deg}), o ambos.



Control de la síntesis de enzima

La síntesis de ciertas enzimas depende de la presencia de **inductores,** típicamente sustratos o compuestos relacionados desde el punto de vista estructural que inician su síntesis. Por ejemplo, *Escherichia coli* cultivada en glucosa sólo cataboliza lactosa luego de adición de un β-galactósido, un inductor que inicia la síntesis de una β-galactosidasa y una galactósido permeasa (fig. 38-3). Las enzimas inducibles de seres humanos comprenden la triptófano pirrolasa, treonina deshidratasa, tirosina-α-cetoglutarato aminotransferasa, enzimas del ciclo de la urea, HMG-CoA reductasa y citocromo P450. A la inversa, un exceso de un metabolito puede restringir la síntesis de su enzima cognada por medio de **represión**. Tanto la inducción como la represión implican elementos *cis*, secuencias de DNA específicas localizadas corriente arriba de genes regulados, y proteínas reguladoras que transactúan. Los mecanismos moleculares de la inducción y represión se comentan en el capítulo 38. La síntesis de otras enzimas puede estimularse mediante la unión de hormonas y otras señales extracelulares a receptores celulares específicos. En el capítulo 42 se presenta información detallada sobre el control de la síntesis de proteína en respuesta a estímulos hormonales.

Control de la degradación enzimática

En animales, muchas proteínas se degradan por medio de la vía de la ubiquitina-proteasoma, cuyo descubrimiento les valió un Premio Nobel a Aaron Ciechanover, Avram Hershko e Irwin Rose. El proteasoma 26S comprende más de 30 subunidades polipeptídicas dispuestas en forma de cilindro hueco. Los sitios activos de sus subunidades proteolíticas miran hacia el interior del cilindro, lo que impide degradación indiscriminada de proteínas celulares. Las proteínas se dirigen hacia el proteasoma mediante "ubiquitinación", la fijación covalente de una o más moléculas de ubiquitina; esta última es una proteína pequeña, de alrededor de 75 residuos, que está muy conservada entre eucariotas. La ubiquitinación es catalizada por una familia grande de enzimas denominadas ligasas E3, que fijan ubiquitina al grupo amino de la cadena lateral de residuos lisilo.

La vía de la ubiquitina-proteasoma se encarga tanto de la degradación regulada de proteínas celulares seleccionadas (p. ej., ciclinas, en respuesta a señales intracelulares y extracelulares específicas), como de la eliminación de especies proteínicas defectuosas o aberrantes. La clave para la versatilidad y selectividad del sistema de ubiquitina-proteasoma reside tanto en la variedad de las ligasas E3 intracelulares, como en su capacidad para distinguir entre diferentes estados físicos o conformacionales de una proteína blanco. De este modo, la vía de la ubiquitina-proteasoma puede degradar de manera selectiva proteínas cuya integridad física y competencia funcional han quedado comprometidas por la pérdida de un grupo prostético o por daño del mismo, oxidación de residuos cisteína o histidina, o desaminación de residuos asparagina o glutamina. El reconocimiento por enzimas proteolíticas también puede ser regulado por modificaciones covalentes, como fosforilación; unión de sustratos o de efectores alostéricos, o asociación con membranas, oligonucleótidos u otras proteínas. Cada vez más pruebas sugieren que las disfunciones de la vía de ubiquitina-proteasoma contribuyen a la acumulación de especies proteínicas plegadas de modo aberrante, características de varias enfermedades neurodegenerativas.

HAY MÚLTIPLES OPCIONES PARA REGULAR LA ACTIVIDAD CATALÍTICA

En seres humanos, la inducción de síntesis de proteína es un proceso complejo, de múltiples pasos, que típicamente requiere horas para producir cambios importantes de la concentración total de enzima. En contraste, los cambios de la eficiencia catalítica intrínseca por unión de ligandos disociables **(regulación alostérica)** o por **modificación covalente** logran regulación de la actividad enzimática en segundos. Los cambios de la concentración de proteína satisfacen requisitos adaptativos a largo plazo, mientras que los cambios de la eficiencia catalítica son más idóneos para alteraciones rápidas y transitorias del flujo de metabolitos.

LOS EFECTORES ALOSTÉRICOS REGULAN CIERTAS ENZIMAS

Inhibición por retroalimentación se refiere a la inhibición de una enzima en una vía biosintética por un producto terminal de esa vía. En el ejemplo que sigue, para la biosíntesis de D a partir de A, catalizada por las enzimas Enz_1 a Enz_3,

$$A \xrightarrow{Enz_1} B \xrightarrow{Enz_2} C \xrightarrow{Enz_3} D$$

las altas concentraciones de D inhiben la conversión de A en B. La inhibición no depende del "regreso" de los intermediarios, sino de la capacidad de D para unirse a Enz_1 e inhibirla. Por lo general, D se une a un **sitio alostérico** separado desde el punto de vista espacial del sitio catalítico de la enzima blanco. De esta manera, los inhibidores por retroacción típicamente tienen poca o ninguna similitud estructural con los sustratos de las enzimas que inhiben. En este ejemplo, el inhibidor por retroalimentación D actúa como un **efector alostérico negativo** de Enz_1.

En una vía biosintética ramificada, las reacciones iniciales participan en la síntesis de múltiples productos terminales. En la figura 9-4 se muestra una vía biosintética ramificada hipotética en la cual las flechas curvas llevan desde inhibidores por retroacción hacia las enzimas cuya actividad inhiben. Las secuencias $S_3 \rightarrow A$, $S_4 \rightarrow B$, $S_4 \rightarrow C$ y $S_3 \rightarrow \rightarrow D$ representan, cada una, secuencias de reacción lineal que son inhibidas por retroacción por sus productos terminales. Las vías de la biosíntesis de nucleótido (cap. 33) proporcionan ejemplos específicos.

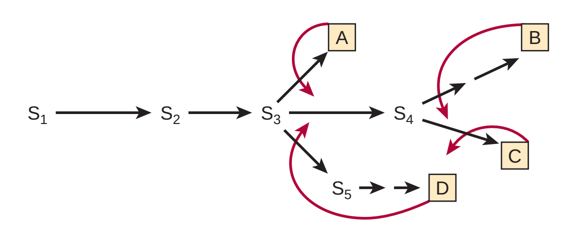


FIGURA 9-4 Sitios de inhibición por retroalimentación en una vía biosintética ramificada. S_1-S_5 son intermediarios en la biosíntesis de productos terminales A-D. Las flechas rectas representan enzimas que catalizan las conversiones indicadas. Las flechas curvas de color rojo representan asas de retroalimentación e indican sitios de inhibición por retroalimentación por productos terminales específicos.

La cinética de inhibición por retroalimentación puede ser competitiva, no competitiva, parcialmente competitiva o mixta. Los inhibidores por retroalimentación, que suelen ser los pequeños bloques de construcción moleculares de macromoléculas (p. ej., aminoácidos para proteínas, nucleótidos para ácidos nucleicos), por lo general inhiben el primer paso comprometido en una secuencia biosintética particular. Un ejemplo muy estudiado es la inhibición de la aspartato transcarbamoilasa bacteriana por CTP (véase más adelante y cap. 33).

Múltiples asas de retroalimentación proporcionan control fino adicional. Por ejemplo, un exceso de producto B aminora el requerimiento de sustrato S_2 (fig. 9-5). Con todo, S_2 también se necesita para la síntesis de A, C y D. De este modo, para esta vía, el exceso de B restringe la síntesis de los cuatro productos terminales, al margen de la necesidad de los otros tres. Para sortear esta dificultad potencial, cada producto terminal sólo puede inhibir de manera parcial la actividad catalítica. El efecto de un exceso de dos o más productos terminales puede ser estrictamente aditivo o, de modo alternativo, mayor que su efecto individual (inhibición por retroalimentación cooperativa).

La aspartato transcarbamoilasa (ATCasa) es un modelo de enzima alostérica

La ATCasa, el catalítico para la primera reacción única para la biosíntesis de pirimidina (fig. 33-9), es un blanco de regulación por retroalimentación por trifosfato de citidina (CTP) y trifosfato de adenosina (ATP). El CTP, un producto terminal de la vía biosintética de pirimidina, inhibe la ATCasa, mientras que el ATP la activa. Además, las concentraciones altas de ATP pueden superar la inhibición por CTP, lo que permite que la síntesis de nucleótidos *pirimidina* proceda cuando las concentraciones de nucleótido *purina* están altas.

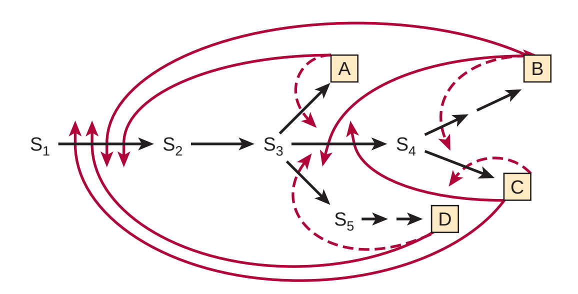


FIGURA 9-5 Inhibición por retroalimentación múltiple en una vía biosintética ramificada. Superpuestas sobre asas de retroalimentación simples (flechas de color rojo punteadas), hay múltiples asas de retroalimentación (flechas de color rojo continuas) que regulan enzimas comunes a la biosíntesis de varios productos terminales.

Los sitios alostérico y catalítico son distintos desde el punto de vista espacial

La disimilitud estructural entre un inhibidor por retroalimentación y el sustrato para la enzima cuya actividad regula, sugiere que estos efectores no son **isostéricos** con un sustrato, sino **alostéricos** ("ocupan otro espacio"). Por consiguiente, Jacques Monod propuso la existencia de sitios alostéricos que son distintos desde el punto de vista físico del sitio catalítico. De esta manera, las **enzimas alostéricas** son aquellas para las cuales la catálisis en el sitio activo puede modularse por la presencia de efectores en un sitio alostérico. Esta hipótesis se ha confirmado por muchas líneas de evidencia, incluso cristalografía con rayos X y mutagénesis dirigida hacia sitio, lo que demuestra la existencia de sitios activo y alostérico distintos desde el punto de vista espacial sobre diversas enzimas. Por ejemplo, la ATCasa de *Escherichia coli* es un dodecámero que consta de seis subunidades catalíticas y seis subunidades reguladoras; estas últimas se unen a los nucleótido trifosfatos que modulan la actividad. En general, la unión de un regulador alostérico induce un cambio conformacional en la enzima que abarca el sitio activo.

Los efectos alostéricos pueden ocurrir sobre K_m o sobre $V_{máx}$

Hacer referencia a la cinética de la inhibición alostérica como "competitiva" o "no competitiva" con sustrato conlleva implicaciones mecanicistas desorientadoras. En lugar de eso se hace referencia a dos clases de enzimas reguladas: de la serie K y de la serie V. Para las enzimas alostéricas de la serie K, la cinética de saturación de sustrato es competitiva en el sentido de que K_m está incrementada sin un efecto sobre $V_{máx}$. Para enzimas alostéricas de la serie V, el inhibidor alostérico disminuye $V_{máx}$ sin afectar la K_m. Las alteraciones de K_m o $V_{máx}$ probablemente se producen por cambios conformacionales en el sitio catalítico inducidos por unión del efector alostérico en su sitio. Para una enzima alostérica de la serie K, este cambio conformacional puede debilitar los enlaces entre sustrato y residuos de unión a sustrato. Para una enzima alostérica de la serie V, el efecto primario puede ser alterar la orientación o la carga de residuos catalíticos, lo que genera un decremento de la $V_{máx}$. Aun así, como consecuencia de estos cambios conformacionales, pueden observarse efectos intermedios sobre K_m y $V_{máx}$.

LA REGULACIÓN POR RETROALIMENTACIÓN NO ES SINÓNIMO DE INHIBICIÓN POR RETROACCIÓN

En células tanto de mamífero como de bacterias, los productos terminales "producen retroalimentación" de su propia síntesis, y la controlan, en muchos casos por medio de inhibición por retroacción de una enzima biosintética temprana. Comoquiera que sea, es

necesario distinguir entre **regulación por retroalimentación,** término fenomenológico desprovisto de inferencias mecanicistas, e **inhibición por retroalimentación**, mecanismo para la regulación de la actividad enzimática. Por ejemplo, si bien el colesterol de la dieta aminora la síntesis hepática de colesterol, esta **regulación** por retroacción no incluye **inhibición** por retroacción. La HMG-CoA reductasa, la enzima limitante de la colesterogénesis, queda afectada, pero el colesterol no inhibe por retroalimentación su actividad. La regulación en respuesta al colesterol de la dieta comprende restricción por el colesterol o por un metabolito del colesterol, de la expresión del gen que codifica para HMG-CoA reductasa (represión de enzima) (cap. 26).

MUCHAS HORMONAS ACTÚAN MEDIANTE SEGUNDOS MENSAJEROS ALOSTÉRICOS

Los impulsos nerviosos —y la unión de hormonas a receptores de superficie celular— desencadenan cambios del índice de reacciones catalizadas por enzima dentro de células blanco, al inducir liberación o síntesis de efectores alostéricos especializados llamados **segundos mensajeros**. El mensajero primario, o “primer mensajero”, es la molécula de hormona o el impulso nervioso. Los segundos mensajeros incluyen 3′,5′-cAMP, sintetizado a partir de ATP por la enzima adenilil ciclasa en respuesta a la hormona adrenalina, y Ca^{2+}, que se almacena dentro del retículo endoplásmico de casi todas las células. La despolarización de membrana originada por un impulso nervioso abre un canal de membrana que libera ion calcio hacia el citoplasma, donde se une a enzimas comprendidas en la regulación de la contracción y la movilización de glucosa almacenada desde glucógeno, y las activa. La glucosa después satisface las demandas de energía aumentadas de la contracción muscular. Otros segundos mensajeros incluyen el 3′,5′-cGMP y los polifosfoinositoles, producidos por la hidrólisis de fosfatidil inosítidos por fosfolipasas reguladas por hormona. En los capítulos 19, 42 y 48 pueden encontrarse ejemplos específicos de la participación de segundos mensajeros en la regulación de procesos celulares.

LAS MODIFICACIONES COVALENTES REGULADORAS PUEDEN SER REVERSIBLES O IRREVERSIBLES

En células de mamífero, las dos formas más frecuentes de modificación covalente reguladora son **proteólisis parcial** y **fosforilación**. Dado que los organismos carecen de la capacidad para volver a unir las dos porciones de una proteína producidas por hidrólisis de un enlace peptídico, la proteólisis constituye una modificación irreversible. En contraste, la fosforilación es un proceso de modificación reversible. La fosforilación de proteínas en residuos serilo, treonilo o tirosilo, catalizada por proteína cinasas, es favorecida desde el punto de vista termodinámico. La eliminación hidrolítica de estos grupos fosforilo por enzimas denominadas proteína fosfatasas es igual de favorecida. Las actividades de las proteína cinasas y de las proteína fosfatasas están reguladas, porque de no estarlo, su acción concertada sería improductiva en los aspectos tanto termodinámico como biológico.

LAS PROTEASAS PUEDEN SECRETARSE COMO PROENZIMAS INACTIVAS DESDE EL PUNTO DE VISTA CATALÍTICO

Ciertas proteínas son sintetizadas y secretadas como proteínas precursoras inactivas conocidas como **proproteínas**. Las proproteínas de enzimas se denominan **proenzimas** o **zimógenos**. La proteólisis selectiva convierte una proproteína por medio de uno o más “cortes” proteolíticos sucesivos en una forma que muestra la actividad característica de la proteína madura; por ejemplo, su actividad enzimática. Las proteínas sintetizadas como proproteínas son la hormona insulina (proproteína = proinsulina), las enzimas digestivas pepsina, tripsina y quimotripsina (proproteínas = pepsinógeno, tripsinógeno y quimotripsinógeno, respectivamente), varios factores de las cascadas de coagulación de la sangre y de disolución de coágulo de sangre (cap. 51), y la proteína del tejido conectivo colágeno (proproteína = procolágeno).

Las proenzimas facilitan la movilización rápida de una actividad en respuesta a demanda fisiológica

La síntesis y secreción de proteasas como proenzimas inactivas en el aspecto catalítico, protege al tejido de origen (p. ej., el páncreas) contra autodigestión, como puede ocurrir en la pancreatitis. Ciertos procesos fisiológicos como la digestión son intermitentes, pero bastante regulares y predecibles. Otros, como la formación de coágulo de sangre, la disolución de coágulo y la reparación de tejido, sólo se ponen en marcha en respuesta a necesidad fisiológica o fisiopatológica apremiante. Está claro que los procesos de formación de coágulo de sangre y de disolución del mismo deben estar coordinados de modo temporal para lograr la homeostasis. Las enzimas necesarias de manera intermitente pero con rapidez a menudo se secretan en una forma inicialmente inactiva puesto que el proceso de secreción o la síntesis nueva de las proteínas requeridas podría ser insuficientemente rápida para responder a una demanda fisiopatológica apremiante, como la pérdida de sangre (cap. 51).

La activación de la proquimotripsina requiere proteólisis selectiva

La proteólisis selectiva comprende uno o más cortes proteolíticos muy específicos que pueden o no acompañarse de la separación de los péptidos resultantes. Lo que es más importante, la proteólisis selectiva suele originar cambios conformacionales que “crean” el sitio catalítico de una enzima. Note que aun cuando los residuos His 57 y Asp 102 residen en el péptido B de la α-quimotripsina, Ser 195 reside en el péptido C (fig. 9-6). Los cambios conformacionales que acompañan a la proteólisis selectiva de la proquimotripsina (quimotripsinógeno) alinean los tres residuos de la red de transmisión de carga (fig. 7-7), lo que forma el sitio catalítico. Note también que los residuos de contacto y catalítico pueden estar ubicados en diferentes cadenas peptídicas, pero aún estar dentro de la distancia formadora de enlace de sustrato unido.

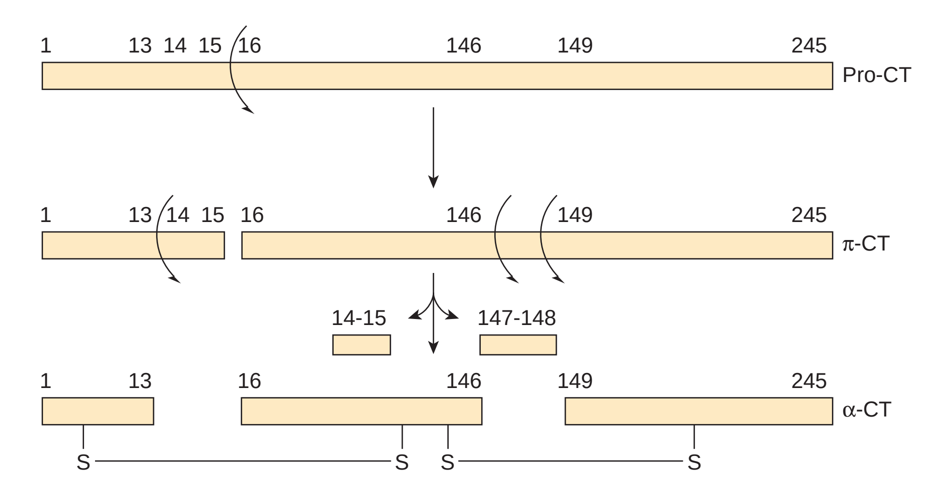


FIGURA 9-6 Representación bidimensional de la secuencia de eventos proteolíticos que a la postre dan por resultado la formación del sitio catalítico de quimotripsina, que incluye la tríada catalítica Asp 102-His57-Ser195 (véase la fig. 7-7). La proteólisis sucesiva forma proquimotripsina (pro-CT), ττ-quimotripsina (ττ-Ct), y en última instancia α-quimotripsina (α-CT), proteasa activa cuyos tres péptidos permanecen relacionados por enlaces covalentes intercaternarios.

LA MODIFICACIÓN COVALENTE REVERSIBLE REGULA ENZIMAS CLAVE DE MAMÍFERO

Las proteínas de mamífero son los blancos de una amplia gama de procesos de modificación covalente. Las modificaciones como prenilación, glucosilación, hidroxilación y acilación de ácido graso introducen características estructurales singulares en proteínas recién sintetizadas, que tienden a persistir durante toda la vida de la proteína. Entre las modificaciones covalentes que regulan la función de las proteínas (p. ej., metilación, acetilación), la más frecuente con mucho es la fosforilación-desfosforilación. Las **proteína cinasas** fosforilan proteínas al catalizar la transferencia del grupo fosforilo terminal de ATP hacia los grupos hidroxilo de residuos serilo, treonilo o tirosilo, lo que forma residuos *O*-fosfoserilo, *O*-fosfotreonilo u *O*-fosfotirosilo, respectivamente (fig. 9-7). Algunas proteína cinasas se dirigen hacia las cadenas laterales de residuos histidilo, lisilo, arginilo y aspartilo. La forma no modificada de la proteína puede regenerarse mediante eliminación hidrolítica de grupos fosforilo, catalizada por **proteína fosfatasas**.

Una célula de mamífero típica posee miles de proteínas fosforiladas y varios cientos de proteína cinasas y proteína fosfatasas que catalizan su interconversión. La facilidad de interconversión de enzimas entre sus formas fosfo- y desfosfo- explica, en parte, la frecuencia con la cual la fosforilación-desfosforilación se utiliza como un mecanismo para el control regulatorio. La fosforilación-desfosforilación permite alterar las propiedades funcionales de la enzima afectada sólo durante el tiempo que satisfaga una necesidad específica. Una vez que la necesidad ha desaparecido, la enzima puede convertirse de regreso a su forma original, preparada para responder al siguiente evento estimulador. Un segundo factor que fundamenta el uso difundido de fosforilación-desfosforilación de proteínas yace en las propiedades químicas del grupo fosforilo mismo. Para alterar las propiedades funcionales de una enzima, es necesario que cualquier modificación de su estructura química influya sobre la configuración tridimensional de la proteína. La alta densidad de carga de los grupos fosforilo unidos a proteína —en general –2 a pH fisiológico— y su propensión a formar fuertes puentes salinos con residuos arginilo y lisilo, hacen de ellos potentes agentes para modificar la estructura y función de proteínas. La fosforilación regularmente influye sobre la eficiencia catalítica intrínseca de una enzima o sobre otras propiedades al inducir cambios conformacionales. Por tanto, los aminoácidos marcados por fosforilación pueden estar, y por lo general lo están, relativamente distantes del sitio catalítico en sí.

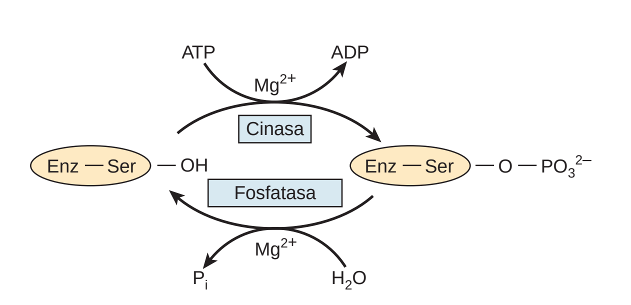


FIGURA 9-7 Modificación covalente de una enzima regulada por fosforilación-desfosforilación de un residuo serilo.

La modificación covalente regula el flujo de metabolitos

En muchos aspectos, los sitios de fosforilación de proteína y otras modificaciones covalentes pueden considerarse otra forma de sitio alostérico. De cualquier modo, en este caso, el "ligando alostérico" se une de modo covalente a la proteína. Tanto la fosforilación-desfosforilación como la inhibición por retroalimentación proporcionan regulación a corto plazo, fácilmente reversible, del flujo de metabolitos en respuesta a señales fisiológicas específicas. Ambas actúan sin alterar la expresión genética. Las dos actúan sobre las primeras enzimas de una secuencia metabólica larga y a menudo biosintética, y ambas actúan en sitios alostéricos más que catalíticos. No obstante, la inhibición por retroalimentación involucra una sola

proteína, y carece de características hormonales y neurales. En contraste, la regulación de enzimas de mamífero por fosforilación-desfosforilación comprende varias proteínas y ATP, y está bajo el control neural y hormonal directo.

LA FOSFORILACIÓN DE PROTEÍNA ES EN EXTREMO VERSÁTIL

La fosforilación-desfosforilación de proteína es un proceso muy versátil y selectivo. No todas las proteínas están sujetas a fosforilación; esta última sólo se dirige a uno, o un pequeño subgrupo, de los muchos grupos hidroxilo sobre la superficie de una proteína. Si bien la función enzimática afectada más a menudo es la eficiencia catalítica de la proteína, la fosforilación también puede alterar su ubicación dentro de la célula, la susceptibilidad a la degradación proteolítica, o la capacidad de respuesta a regulación por ligandos alostéricos. La fosforilación puede incrementar la eficiencia catalítica de una enzima, y convertirla en su forma activa en una proteína, mientras que la fosforilación de otra proteína la convierte en una forma intrínsecamente ineficiente, o inactiva (cuadro 9-1).

Muchas proteínas pueden fosforilarse en múltiples sitios. Otras están sujetas a regulación tanto por fosforilación-desfosforilación, como por la unión de ligandos alostéricos, o por fosforilación-desfosforilación y otra modificación covalente. La fosforilación-desfosforilación en cualquier sitio puede catalizarse por múltiples proteína cinasas o proteína fosfatasas. Muchas proteína cinasas y casi todas las proteína fosfatasas actúan sobre más de una proteína y se interconvierten entre formas activa e inactiva por la unión de segundos mensajeros o por modificación covalente por fosforilación-desfosforilación.

La interrelación entre proteína cinasas y proteína fosfatasas, entre las consecuencias funcionales de la fosforilación en diferentes sitios, entre sitios de fosforilación y sitios alostéricos, o entre sitios de fosforilación y otros sitios de modificación covalente, proporciona la base para la formación de redes reguladoras que integran múltiples señales de entrada ambientales para desencadenar una respuesta celular coordinada apropiada. Por ejemplo, la modificación de histonas por medio de una combinación de acetilación y fosforilación constituye la base para el "código de histonas", que modula la estructura de la cromatina para aumentar o silenciar la expresión de genes (cap. 38).

En estas redes reguladoras complejas, las enzimas individuales muestran respuesta a diferentes señales ambientales. Por ejemplo, una enzima que puede fosforilarse por más de una proteína cinasa en un sitio único, puede convertirse catalíticamente en una forma ineficiente (inactiva), o viceversa, en respuesta a cualquiera de varias señales. Si la proteína cinasa es activada en respuesta a una señal diferente de la que activa a la proteína fosfatasa, la fosfoproteína se convierte en un nodo de decisión. El resultado funcional, por lo general actividad catalítica, refleja el estado de fosforilación. Dicho estado o grado de fosforilación está determinado por las actividades relativas de la proteína cinasa y la proteína fosfatasa, un reflejo de la presencia y de la fuerza relativa de las señales ambientales que actúan a través de cada una.

La capacidad de muchas proteína cinasas y proteína fosfatasas para marcar a más de una proteína proporciona un medio para una señal ambiental con el fin de regular de manera coordinada múltiples procesos metabólicos. Por ejemplo, las enzimas 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa y acetil-CoA carboxilasa —las enzimas controladoras para la biosíntesis de colesterol y ácido graso, respectivamente— son fosforiladas y desactivadas por la proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina (AMP). Cuando esta proteína cinasa se activa sea mediante fosforilación por una u otra proteína cinasa o en respuesta a la unión de su activador alostérico 5′-AMP, las dos vías principales de las cuales depende la síntesis de lípidos a partir de acetil-CoA quedan inhibidas.

CUADRO 9-1 Ejemplos de enzimas de mamífero cuya actividad catalítica es alterada por fosforilación-desfosforilación covalente

Enzima	Estado de actividad	
	Baja	Alta
Acetil-CoA carboxilasa	EP	E
Glucógeno sintasa	EP	E
Piruvato deshidrogenasa	EP	E
HMG-CoA reductasa	EP	E
Glucógeno fosforilasa	E	EP
Citrato liasa	E	EP
Fosforilasa b cinasa	E	EP
HMG-CoA reductasa cinasa	E	EP

Abreviaturas: E, desfosfoenzima; EP, fosfoenzima.

EVENTOS REGULADORES INDIVIDUALES SE COMBINAN PARA FORMAR REDES DE CONTROL COMPLEJAS

Las células llevan a cabo una compleja gama de procesos metabólicos que deben regularse en respuesta a una amplia gama de factores ambientales. En consecuencia, las enzimas interconvertibles, y las enzimas de las cuales depende su interconversión no actúan como conmutadores de "encendido" y "apagado" aislados. Para satisfacer las demandas de mantener la homeostasis, estos bloques de construcción están enlazados para formar redes reguladoras integradas.

Un ejemplo bien estudiado de ese tipo de red es el ciclo de células eucarióticas que controla la división celular. Cuando emerge del estado quiescente, o G_0, el proceso en extremo complejo de división celular procede a través de una serie de fases específicas designadas G_1, S, G_2 y M (fig. 9-8). Complejos sistemas de vigilancia, llamados puntos de control, evalúan indicadores clave de progreso para asegurar que ninguna fase del ciclo se inicie sino hasta que la fase previa esté completa. En la figura 9-8 se desglosa de modo simplificado parte del punto de control que regula el inicio de replicación de DNA, denominado la fase S. Una proteína cinasa llamada ATM se asocia con el genoma. Si el DNA contiene una rotura de doble cadena, el cambio resultante en la conformación de la cromatina activa a la ATM. En el momento de la activación, una subunidad del dímero de ATM activada se disocia e inicia una serie, o cascada, de eventos de fosforilación-desfosforilación de proteína

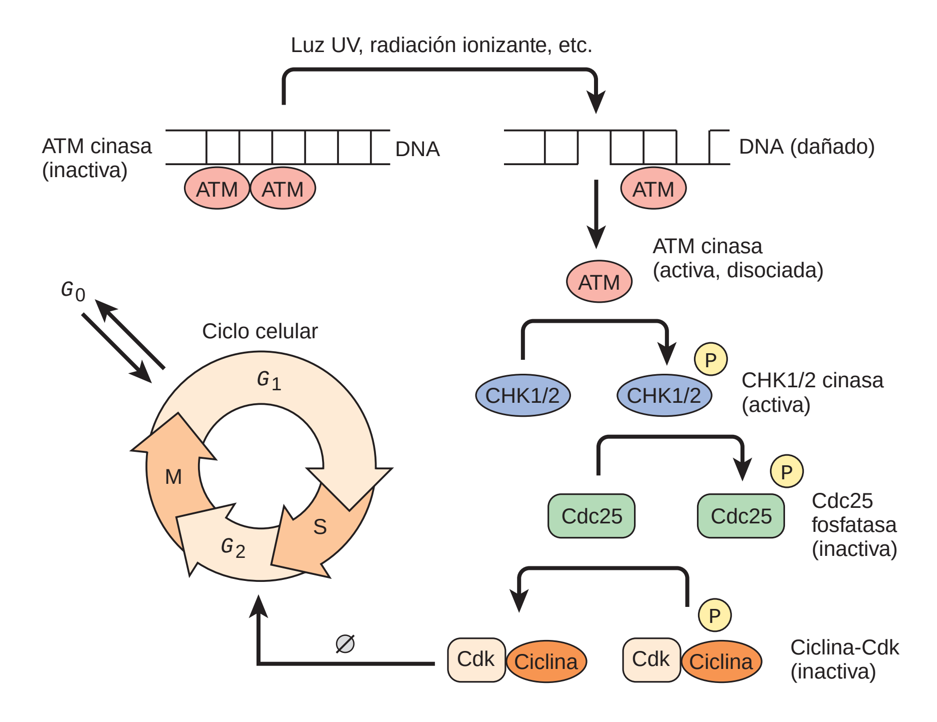


FIGURA 9-8 Representación simplificada del punto de control de G_1 a S del ciclo de célula eucariótica. El círculo muestra las diversas etapas en el ciclo de célula eucariótica. El genoma se replica durante la fase S, mientras que en el transcurso de la fase M las dos copias del genoma se segregan y ocurre división celular. Cada una de estas fases está separada por una fase *G*, o de crecimiento (*growth*), caracterizada por un incremento del tamaño de las células y la acumulación de los precursores requeridos para el ensamblaje de los grandes complejos macromoleculares formados durante las fases S y M.

mediados por las proteínas cinasas CHK1 y CHK2, proteína fosfatasa Cdc25 y, por último, un complejo entre una ciclina y una proteína cinasa dependiente de ciclina, o Cdk. La activación del complejo de Cdk/ciclina bloquea la transición de G_1 a S, lo que evita la replicación de DNA dañado. La falla en este punto de control puede llevar a mutaciones en el DNA que pueden conducir a cáncer u otras enfermedades. Cada paso en la cascada proporciona un conducto para vigilar indicadores adicionales del estado de la célula antes de entrar en la fase S.

RESUMEN

- La homeostasis incluye mantener un ambiente intracelular y dentro de órganos relativamente constante pese a amplias uctuaciones en el ambiente externo. Esto se logra por medio de cambios apropiados en las velocidades de reacciones bioquímicas en respuesta a necesidad siológica.
- Los sustratos para casi todas las enzimas por lo general están presentes a una concentración cercana a su K_m. Esto facilita el control pasivo de los índices de formación de producto en respuesta a cambios de las concentraciones de intermediarios metabólicos.
- El control activo del ujo de metabolitos comprende cambios de la concentración, la actividad catalítica, o ambos, de una enzima que cataliza una reacción limitante comprometida.
- La proteólisis selectiva de proenzimas inactivas desde el punto de vista catalítico, inicia cambios conformacionales que forman el sitio activo. La secreción como una proenzima inactiva facilita la movilización rápida de la enzima en respuesta a lesión o necesidad siológica, y puede proteger al tejido de origen (p. ej., autodigestión por proteasas).
- La unión de metabolitos y segundos mensajeros a sitios distintos del sitio catalítico de enzimas desencadena cambios conformacionales que alteran la $V_{máx}$ o la K_m.
- La fosforilación por proteína cinasas de residuos serilo, treonilo o tirosilo especí cos —y la desfosforilación subsiguiente por proteína fosfatasas— regula la actividad de muchas enzimas de seres humanos. Las proteína cinasas y fosfatasas que participan en cascadas de regulación que responden a señales hormonales o de segundo mensajero, constituyen redes reguladoras que pueden procesar e integrar información ambiental compleja para producir una respuesta celular apropiada e integral.

REFERENCIAS

Bray D: Protein molecules as computational elements in living cells. Nature 1995;376:307.

Ciechanover A, Schwartz AL: e ubiquitin system: Pathogenesis of human diseases and drug targeting. Biochim Biophys Acta 2004;1695:3.

Graves DJ, Martin BL, Wang JH: *Co- and Post-translational Modi cation of Proteins: Chemical Principles and Biological E ects.* Oxford Univ Press, 1994.

Johnson LN, Lewis RJ: Structural basis for control by phosphorylation. Chem Rev 2001;101:2209.

Muoio DM, Newgard CB: Obesity-related derangements in metabolic regulation. Annu Rev Biochem 2006;75:403.

Pilkis SJ et al: 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: a metabolic signaling enzyme. Annu Rev Biochem 1995;64:799.

Rovner SL: Hold that thought. Slowly but surely scientists are unveiling the complex chemical underpinnings of memory. Chem Eng News 2007;85,13.

Scriver CR et al (editors): *e Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2000.

Sitaramayya A (editor): *Introduction to Cellular Signal Transduction*. Birkhauser, 1999.

Stadtman ER, Chock PB (editors): *Current Topics in Cellular Regulation.* Academic Press, 1969.

Stieglitz K et al: Monitoring the transition from the T to the R state in *E. coli* aspartate transcarbamoylase by x-ray crystallography: Crystal structures of the E50A mutant enzyme in four distinct allosteric states. J Mol Biol 2004;341:853.

Tu B et al: Logic of the yeast metabolic cycle: Temporal compartmentalization of cellular processes. Science 2005; 310:1152.

Weber G (editor): *Advances in Enzyme Regulation.* Pergamon Press, 1963.

CAPÍTULO

10

Bioinformática y biología computacional

Peter J. Kennelly, PhD y Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los primeros modelos científicos de patogenia, como la teoría de la enfermedad por gérmenes, de gran influencia, de Louis Pasteur, fueron de naturaleza binaria: cada enfermedad poseía un agente causal único y definible. El paludismo se originó por la ameba *Plasmodium falciparum,* la tuberculosis por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis,* la drepanocitosis por una mutación en un gen que codifica para una de las subunidades de la hemoglobina, la poliomielitis por el virus del mismo nombre, y el escorbuto por una deficiencia de ácido ascórbico. De este modo, la estrategia para tratar enfermedad o prevenirla podía reducirse a un proceso sencillo de rastrear el agente causal y después idear algún medio para eliminarlo, neutralizar sus efectos, o bloquear su ruta de transmisión. Este método se ha empleado de manera exitosa para entender y tratar una amplia gama de enfermedades infecciosas y genéticas. Sin embargo, ha quedado claro que los determinantes de muchas enfermedades —entre ellas cáncer, cardiopatía coronaria, diabetes tipo 2 y enfermedad de Alzheimer— son de naturaleza **multifactorial**. En lugar de tener uno o varios agentes causales específicos, cuya presencia es tanto necesaria como suficiente, la aparición y progresión de las enfermedades mencionadas refleja la compleja interrelación entre la constitución genética, la dieta y el estilo de vida de cada individuo, así como una gama de factores ambientales, como la presencia de toxinas, virus o bacterias.

El desafío planteado por enfermedades multifactoriales demanda un aumento de la amplitud y la profundidad del conocimiento de organismos vivos capaces de igualar su sofisticación y complejidad. Es necesario identificar las muchas proteínas hasta ahora desconocidas con las cuales interactúan, los vínculos funcionales entre estas proteínas, y las repercusiones de factores de la dieta, genéticos y ambientales sobre ellas. La masa total de información que debe procesarse para entender, de modo tan completo e integral como sea posible, los mecanismos moleculares que fundamentan la conducta de los organismos vivos, así como la manera en la cual las perturbaciones pueden llevar a enfermedad o disfunción, rebasa la capacidad de la mente humana para revisar y analizar. En consecuencia, los científicos biomédicos han echado mano de recursos computacionales sofisticados para reunir y evaluar información biológica a escala masiva.

GENÓMICA: UNA AVALANCHA DE INFORMACIÓN

Los médicos y científicos desde hace mucho tiempo han entendido que el genoma, la totalidad de información genética de un organismo vivo, representaba una rica fuente de información respecto de temas que varían desde metabolismo básico y mecanismos de evolución, hasta longevidad y envejecimiento. Empero, el tamaño masivo del genoma humano, 3×10^9 pares de bases de nucleótido, requirió un cambio paradigmático en el modo en el cual los científicos abordaron la determinación de las secuencias de DNA. A su vez, la necesidad de crear nuevos métodos para "explotar" la masa de datos sobre la secuencia del genoma que siguen surgiendo a partir del *Human Genome Project* (HGP, Proyecto del Genoma Humano) y sus proyectos correlacionados, ha impulsado los avances recientes en bioinformática y biología computacional.

El *Human Genome Project* (HGP)

La compleción exitosa del HGP representa la culminación de más de seis decenios de logros en biología molecular, genética y bioquímica. A continuación se listan cronológicamente varios eventos hito que determinaron toda la secuencia del genoma humano.

1944 — Se demuestra que el DNA es el material hereditario
1953 — Se postula el concepto de la doble hélice
1966 — Se resuelve el código genético
1972 — Se crea la tecnología de DNA recombinante
1977 — Surge la tecnología de secuenciación de DNA práctica
1983 — Se mapea el gen del cual depende la enfermedad de Huntington
1985 — Se desarrolla la reacción en la cadena de polimerasa (PCR)
1986 — La secuenciación de DNA se hace automatizada
1986 — Se identifica el gen del cual depende la distrofia muscular de Duchenne
1989 — Se identifica el gen del cual depende la fibrosis quística
1990 — Se lanza el HGP en EUA
1994 — Se completa el mapeo genético humano
1996 — Se establece el primer mapa de genes humanos
1999 — Se inicia la *Single Nucleotide Polymorphism Initiative*
1999 — Se completa la primera secuencia de un cromosoma humano, el número 22
2000 — Se completa el "primer borrador" del genoma humano
2003 — Se completa la secuenciación del primer genoma humano

Coincidió con estos avances la secuenciación de los genomas de cientos de otros organismos, entre ellos *Haemophilus influenzae* (1995), levadura (1996), *Escherichia coli* (1997), *Caenorhabditis elegans* (1998), *Mycobacterium tuberculosis* (1998), arroz (2000), *Liste-*

ria monocytogenes (2001), el coronavirus que produce el SARS (2003), la rata (2004) y el chimpancé (2005).

Dos grupos se encargaron de secuenciar el genoma humano. El *Human Genome Sequencing Consortium* empleó secuenciación por fragmentación exhaustiva jerárquica (*hierarchical shotgun sequencing*). Para este método, todo el genoma fue separado en fragmentos de alrededor de 100 a 200 kb e insertado en cromosomas artificiales bacterianos (BAC). A continuación, estos últimos se colocaron en cromosomas individuales al buscar secuencias marcadoras conocidas como sitios de secuencia identificada o única (*sequence-tagged sites*) (*loci* genómicos únicos cortos para los cuales se dispone de una valoración de PCR), cuyas localizaciones se conocían. Posteriormente, clonas de los BAC se separaron hacia fragmentos pequeños (fragmentación exhaustiva [*shotgunning*]), y se secuenciaron. Luego se usaron algoritmos de computadora para identificar información de secuencia coincidente a partir de fragmentos que se superponían hasta reconstruir la secuencia completa. El equipo de Celera usó el método de fragmentación exhaustiva del genoma entero. Los fragmentos obtenidos por medio de este método se montaron para formar secuencias contiguas (conjuntos de DNA que poseen secuencias que se superponen) que se dispusieron sobre andamios en el orden correcto, aun cuando no necesariamente conectados en una secuencia continua. Las posiciones correctas de estos andamios después se determinaron al emplear sitios de secuencia identificada o única. Los instrumentos automatizados para la determinación de la secuencia (*sequenators*), de alta capacidad de procesamiento, programas de computadora potentes, y el elemento de competición, contribuyeron al rápido progreso hecho por ambos grupos, que culminó en la rápida compleción del HGP. En www.genomenewsnetwork.org/articles/06_00/sequence_primer.shtml puede encontrarse una descripción detallada de los dos métodos.

Genomas y medicina

El fácil acceso a secuencias de genoma de organismos que abarcan los tres dominios filogenéticos, *Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*, junto con acceso a algoritmos poderosos para manipular y transformar datos derivados de estas secuencias, ya han generado transformaciones importantes en biología y bioquímica. En los primeros decenios del siglo XXI se atestiguará la expansión de la “revolución de la genómica” hacia la práctica de la medicina conforme médicos y científicos exploten el nuevo conocimiento del genoma humano y de los genomas de los organismos que colonizan, alimentan e infectan al *Homo sapiens*.

Hoy, las comparaciones entre los genomas de cepas patogénicas y no patogénicas de un microorganismo pueden poner de relieve probables determinantes de virulencia. De manera similar, la **genómica comparativa** se está aplicando a agentes patógenos y sus huéspedes para identificar listas de productos de gen singulares a los primeros, a partir de los cuales seleccionar blancos de fármacos potenciales. En el futuro, los médicos diagnosticarán y tratarán a enfermos guiados por información proporcionada por la secuencia del genoma de un individuo. Si bien la “medicina de diseñador” basada en genoma promete ser eficiente y eficaz, persisten importantes desafíos técnicos y científicos por abordar antes de que la promesa de la genómica se pueda cumplir por completo tanto en biología como en medicina. Estos desafíos, resumidos con admirable claridad por FS Collins y asociados en un artículo titulado “A vision for the future of genomic research. A blueprint for the genomic era” (*Nature* 2003; 422; 6934), son como sigue:

- Identificar de modo integral los componentes estructurales y funcionales codificados en un rango de organismos diversos desde el punto de vista biológico.
- Dilucidar la organización de redes genéticas y vías de proteína, y establecer de qué manera contribuyen a fenotipos celulares y de organismos.
- Crear una comprensión detallada de la variación hereditaria en genomas.
- Entender la variación evolutiva a través de las especies y los mecanismos que fundamentan esta variación.
- Crear opciones de política que faciliten el uso difundido apropiado de genómica en situaciones tanto de investigación como clínicas.
- Crear estrategias robustas para identificar las contribuciones genéticas a la respuesta a enfermedad y medicamentos.
- Identificar variantes de gen que contribuyen a buena salud y resistencia a enfermedad.
- Crear métodos basados en genoma para la predicción de susceptibilidad a enfermedad y respuesta a fármacos, la detección temprana de enfermedad, y la delineación de la taxonomía molecular de estados morbosos.
- Explotar nueva información sobre genes y vías para la creación de métodos terapéuticos más eficaces para enfermedad.
- Determinar de qué modo la información sobre el riesgo genético debe comunicarse en situaciones clínicas, y cómo esa información debe guiar estrategias y conducta en cuanto a salud.

Las oportunidades ofrecidas por la revolución genómica en avance presentarán a la sociedad profundos desafíos en las áreas de ética, derecho y política pública. Los primeros presagios de estos desafíos pueden vislumbrarse en las controversias activas respecto de alimentos modificados genéticamente, la clonación de animales enteros y la utilización de células madre embrionarias humanas en investigación. La información que está por llegar acerca de las contribuciones moleculares y genéticas a rasgos y conducta humanos, así como a la salud física o a enfermedad, exigirá la creación de una nueva generación de políticas nacionales e internacionales en las áreas de derecho, medicina, agricultura, etcétera.

BIOINFORMÁTICA

Explota las formidables capacidades de almacenamiento y procesamiento de información de la computadora para crear recursos para la recolección, la compaginación, la recuperación y el análisis de datos biológicos a escala masiva. Es posible tener acceso a muchos recursos bioinformáticos (véase más adelante) mediante Internet, que los proporciona con alcance y repercusiones mundiales. El objetivo central de un proyecto de bioinformática típico es montar toda la información disponible relevante para un tema particular en una ubicación única, lo que suele denominarse una **biblioteca** o **base de datos**, en un formato uniforme que haga que los datos se presten a manipulación y análisis por medio de algoritmos de computadora.

El tamaño y las capacidades de las bases de datos bioinformáticas pueden variar ampliamente en función del alcance y la naturaleza de sus objetivos. La base de datos PubMed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed) compila citas de todos los artículos publicados en miles de revistas dedicadas a la investigación biomédica y biológica. En la actualidad PubMed contiene más de 17 millones de citas. En contraste, la página principal de Cytochrome P450 (http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html) se confina a los alrededor de 6 000 miembros de la familia de enzimas citocromo P450 que participan en el metabolismo de muchos medicamentos y otros xenobióticos (cap. 53).

La construcción de una base de datos integral y fácil de usar plantea muchos desafíos. En primer lugar, la información biomédica viene en una amplia variedad de formas. Por ejemplo, la información sobre codificación en un genoma, aun cuando es voluminosa, está compuesta de secuencias lineales simples de cuatro bases de nucleótidos. Si bien el número de residuos aminoácidos que define la estructura primaria de una proteína es pequeño en comparación con el número de pares de bases en un genoma, una descripción de la estructura de rayos X de una proteína requiere que la localización de cada átomo se especifique en un espacio tridimensional.

En segundo lugar, anticipar la manera en la cual los usuarios pueden desear investigar o analizar la información dentro de una base de datos, e idear algoritmos para manejar estas variables, puede resultar en extremo desafiante. Por ejemplo, incluso en la tarea simple de investigar una base de datos de genes por lo general se emplean, solos o en diversas combinaciones, criterios tan diversos como el nombre del gen, el nombre de la proteína para la cual codifica, la función biológica del producto del gen, una secuencia de nucleótidos dentro del gen, una secuencia de aminoácidos dentro de la proteína para la cual codifica, el organismo en el cual está presente o el nombre de un investigador que trabaja en ese gen. Los investigadores que desean determinar si las repercusiones de un polimorfismo genético sobre la longevidad están influidas por la naturaleza del clima donde reside una persona quizá hagan necesario comparar datos provenientes de múltiples bases de datos. De modo similar, puede aplicarse un rango diverso de criterios cuando se describen los sujetos de un estudio biomédico: estatura; peso; edad; género; índice de masa corporal; dieta; grupo étnico; antecedentes médicos; profesión; uso de fármacos o drogas, alcohol o productos del tabaco; ejercicio; presión arterial; hábitat; estado marital; tipo de sangre; concentración sérica de colesterol, etcétera.

RECURSOS BIOINFORMÁTICOS Y GENÓMICOS

La gran colección de bases de datos que se han creado para el montaje, la anotación, el análisis y la distribución de datos biológicos y biomédicos refleja el alcance y la variedad de investigación molecular, bioquímica, epidemiológica y clínica contemporánea. A continuación se listan ejemplos de recursos de bioinformática importantes.

GenBank, UniProt y la Protein Database (PDB)

Representan tres de las bases de datos de bioinformática más antiguas y más ampliamente usadas. Se complementan entre sí al enfocarse en un aspecto diferente de la estructura macromolecular. Los orígenes de la UniProt Knowledgebase (http://www.pir.uniprot.org/) se remontan hasta el *Atlas of Protein Sequence and Structure*, enciclopedia impresa de secuencias de proteínas, publicada por vez primera en 1968 por Margaret Dayhoff y la *National Biomedical Research Foundation* en la *Georgetown University*. El objetivo del atlas fue facilitar estudios de evolución de proteínas usando las secuencias de aminoácidos que se están generando como consecuencia de la creación del método de Edman para la secuenciación de proteínas (cap. 4). En asociación con el *Martinsreid Institute for Protein Sequences* y la *International Protein Information Database* de Japón, el atlas hizo la transición hacia la forma electrónica como la *Protein Information Resource* (PIR) *Protein Sequence Database* en 1984. En 2002, la PIR integró su base de datos de secuencia y función de proteínas con la base de datos de proteínas Swiss-Prot, establecida por Amos Bairoch en 1986 bajo los auspicios del *Swiss Institute of Bioinformatics* y el *European Bioinformatics Institute*, para formar el recurso más integral del mundo sobre estructura y función de proteínas, la UniProt Knowledgebase.

GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/), la base de datos de secuencia genética, de los *National Institutes of Health's* (NIH), es una colección de secuencias de nucleótidos y sus traducciones. GenBank, establecido en 1979 por Walter Goad de *Los Alamos National Laboratory*, en la actualidad es mantenido por el *National Center for Biotechnology Information* en los NIH. GenBank constituye una de las piedras angulares de la *International Sequence Database Collaboration*, consorcio que incluye la DNA *Database of Japan* y el *European Molecular Biology Laboratory*.

La Protein Database (http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do), depositario de las estructuras tridimensionales de proteínas, los oligonucleótidos y otras macromoléculas biológicas, fue establecida en 1971 por Edgar Meyer y Walter Hamilton de los *Brookhaven National Laboratories*. En 1998, la responsabilidad de la PDB se transfirió a la *Research Collaboration for Structural Bioinformatics* formada por la *Rutgers University*, la *University of California* en San Diego, y la *University of Wisconsin*.

La HapMap Database

Aun cuando la secuencia del genoma de cualesquiera dos sujetos es 99.9% idéntica, el DNA humano contiene alrededor de 10 millones de sitios en los cuales los individuos difieren por una base de nucleótido único. Estos sitios se llaman **polimorfismos de un solo nucleótido (SNP)**. Cuando los grupos SNP localizados en el mismo cromosoma se heredan juntos en bloques, el modelo de SNP en cada bloque se llama un **haplotipo**. Al comparar las distribuciones de haplotipos en grupos de individuos con o sin una enfermedad o respuesta dada, los científicos biomédicos pueden identificar SNP que muestran vínculo con rasgos fenotipos específicos. Este proceso se puede facilitar al enfocarse en **SNP marca,** subgrupo de SNP en un bloque dado suficiente para proporcionar un marcador singular para un haplotipo determinado. El estudio detallado de cada región debe revelar variantes en genes que contribuyen a una enfermedad o respuesta específica.

En 2002, científicos de Estados Unidos, Canadá, China, Japón, Nigeria y el Reino Unido lanzaron el *International HapMap Project* (http://www.hapmap.org), esfuerzo integral por identificar SNP relacionados con enfermedades frecuentes de seres humanos y respuestas

diferenciales a compuestos farmacéuticos. El **mapa de haplotipo (HapMap)** resultante debe llevar al diagnóstico más temprano y preciso, y se espera que también dé pie a mejoras en la prevención y el manejo del paciente. El conocimiento del perfil genético de un sujeto también se empleará para guiar la selección de medicamentos o vacunas seguros y eficaces, proceso llamado **farmacogenómica**. Estos marcadores genéticos también proporcionarán marcas con las cuales identificar y rastrear genes específicos a medida que los científicos tratan de aprender más acerca de los procesos cruciales de la herencia y la selección genéticas.

El ENCODE Project

La identificación de todos los *elementos funcionales* del genoma extenderá mucho la comprensión de los eventos moleculares que fundamentan el desarrollo, la salud y la enfermedad de seres humanos. Para abordar este objetivo, a finales de 2003, el *National Human Genome Research Institute* (NHGRI) inició el ENCODE **(*Enc*yclopedia *O*f *D*NA *E*lements)** Project. Con sede en la *University of California* en Santa Cruz, ENCODE (http://www.genome.gov/10005107) es un esfuerzo colaborativo que combina métodos de laboratorio y computacionales para identificar cada elemento funcional en el genoma humano. Investigadores del consorcio con diversos trasfondos y experiencia colaboran en la creación y evaluación de nuevas técnicas, tecnologías y estrategias de alta capacidad de procesamiento para abordar las deficiencias actuales en la capacidad para identificar elementos funcionales.

En la fase piloto de ENCODE se establecerá como objetivo alrededor de 1% (30 Mb) del genoma humano para análisis computacional y experimental rigurosos. El consorcio confronta muchos desafíos. Además del tamaño total del genoma humano y la naturaleza críptica de gran parte de su secuencia, es necesario que los científicos afronten las variaciones de la función del genoma que caracterizan a diferentes tipos de célula y etapas del desarrollo. Dada la complejidad de los problemas, está claro que ningún método experimental o tipo de célula único bastará para proporcionar una perspectiva general completa de las interrelaciones entre la secuencia, la estructura y la función del genoma.

Entrez Gene y dbGAP

***Entrez* Gene** (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene), base de datos mantenida por el *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), proporciona información variada acerca de genes humanos individuales. La información comprende la secuencia del genoma en el gen y alrededor del mismo, la estructura del gen (fronteras de exón-intrón), la secuencia de los mRNA producidos a partir del gen, y cualesquiera fenotipos relacionados con una mutación dada. *Entrez* Gene también lista, cuando se conoce, la función de la proteína codificada, y las repercusiones de polimorfismos de un solo nucleótido conocidos en la región codificadora.

Una base de datos del NCBI que complementa a *Entrez* Gene es dbGAP, la *Database of Genotype and Phenotype* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gap). La dbGAP compila los resultados de investigación sobre los enlaces entre genotipos y fenotipos específicos. Para proteger datos clínicos confidenciales, la información contenida en dbGAP está organizada en secciones de acceso abierto y de acceso controlado. El acceso a datos confidenciales exige que el usuario solicite autorización a un comité de acceso a datos.

Otras bases de datos que tratan de genética y salud humanas son *Online Mendelian Inheritance in Man* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim), la *Human Gene Mutation Database* (http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php), el *Cancer Genome Atlas* (http://cancergenome.nih.gov/) y *GeneCards* (http://www.genecards.org/), que trata de reunir cualquier información importante acerca de un gen dado a partir de bases de datos de todo el mundo, para crear una "ficha" única y completa para cada gen.

BIOLOGÍA COMPUTACIONAL

Su objetivo primario es crear modelos de computadora que apliquen principios físicos, químicos y biológicos que reflejen la conducta de moléculas y procesos biológicos. Al contrario de la bioinformática, cuyo principal enfoque es la reunión y evaluación de los datos existentes, la biología computacional es de naturaleza experimental y exploradora. Al efectuar experimentos y análisis virtuales en forma de programas informáticos (*in silico*), la biología computacional ofrece la promesa de acelerar mucho el ritmo y la eficiencia de los descubrimientos científicos.

Los biólogos computacionales están intentando crear modelos predictivos que permitirán 1) determinar de manera directa la estructura tridimensional de una proteína a partir de su secuencia primaria; 2) determinar la función de proteínas desconocidas a partir de su secuencia y estructura; 3) investigar inhibidores potenciales de una proteína en forma de programas informáticos, y 4) construir células virtuales que reproduzcan la conducta y predigan las respuestas de sus homólogos vivos a agentes patógenos, toxinas, dieta y fármacos. La creación de algoritmos de computadora que imiten la conducta de proteínas, enzimas, células, etc., incrementará la rapidez, eficiencia y seguridad de la investigación biomédica. La biología computacional también permitirá a los científicos llevar a cabo experimentos en forma de programas informáticos, cuyo alcance, peligro o naturaleza los haga inaccesibles, o inapropiados, para métodos de laboratorio o clínicos convencionales.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE HOMOLOGÍA

Un método importante para la identificación, también denominado **anotación**, de proteínas y productos de gen nuevos es por medio de comparación con proteínas de secuencia o estructura conocida. Dicho de modo sencillo, las búsquedas de homología y las comparaciones de secuencia múltiple operan con base en el principio de que las proteínas que desempeñan funciones similares compartirán dominios conservados u otras características de secuencias o **motivos**, y viceversa (fig. 10-1). De los muchos algoritmos creados para este propósito, el más ampliamente usado es el **BLAST**.

Los orígenes del *Basic Local Alignment Search Tool* **(BLAST)** y otros algoritmos de comparación/alineación de secuencia se remontan a los esfuerzos de los primeros biólogos moleculares por determinar si las similitudes observadas en la secuencia entre proteínas que desempeñaban funciones metabólicas paralelas eran indicativas de cambio progresivo desde un origen común. La principal

Idioma	Palabra	Alineación
Inglés	PHYSIOLOGICAL	P H Y S I O L O G I - C A L
Francés	PHYSIOLOGIQUE	P H Y S I O L O G I - Q U E
Alemán	PHYSIOLOGISCH	P H Y S I O L O G I S C H
Holandés	FYSIOLOGISCH	F - Y S I O L O G I S C H
Español	FISIOLOGICO	F - I S I O L O G I - C O
Polaco	FIZJOLOGICZNY	F - I Z J O L O G I - C Z N Y

FIGURA 10-1 Representación de una alineación de secuencia múltiple. Los idiomas evolucionan de un modo que imitan la manera en que lo hacen los genes y las proteínas. Aquí se muestra la palabra *physiological* del inglés en varios idiomas. La alineación demuestra sus características conservadas. Las identidades con la palabra en inglés se muestran en color rojo oscuro; las similitudes lingüísticas en color rojo claro. Los algoritmos de alineación de secuencia múltiple identifican letras de nucleótido y aminoácidos conservadas en DNA, RNA y polipéptidos de un modo análogo.

pregunta evolutiva abordada fue si las similitudes reflejaban 1) descendencia desde una proteína ancestral común (evolución divergente) o 2) la selección independiente de un mecanismo común para satisfacer alguna necesidad celular específica (evolución convergente), como se anticiparía si una solución particular fuera abrumadoramente superior a las alternativas. El cálculo del número mínimo de cambios de nucleótido necesario para interconvertir isoformas de proteína putativas permite inferir si las similitudes y diferencias muestran o no un modelo que indique cambio progresivo desde un origen compartido.

EL BLAST ha evolucionado hacia una familia de programas optimizados para abordar necesidades y conjuntos de datos específicos. De esta manera, **blastp** compara una secuencia de consulta de *aminoácidos* contra una base de datos de secuencia de *proteína*, **blastn** compara una secuencia de consulta de *nucleótido* contra una base de datos de secuencia de *nucleótido*, **blastx** compara una secuencia de consulta de *nucleótidos* traducida en todos los marcos de lectura contra una base de datos de secuencia de *proteína* para revelar productos de traducción potenciales, **tblastn** compara una secuencia de consulta de *proteína* contra una base de datos de secuencia de *nucleótido* traducidos dinámicamente en los seis marcos de lectura, y **tblastx** compara las traducciones de seis armazones de una secuencia de consulta de *nucleótido* contra las traducciones de seis armazones de una base de datos de secuencia de *nucleótido.* Al contrario de los programas de alineación de secuencia múltiple que se fundamentan en alineaciones *globales,* en los algoritmos de **BLAST** se recalcan regiones de alineación *local* para detectar vínculos entre secuencias con sólo regiones de similitud aisladas. Este método proporciona rapidez y sensibilidad aumentada para relaciones de secuencia distantes. Las secuencias de entrada o "consulta" se fragmentan hacia "palabras" (tamaño por omisión 11 para nucleótidos, 3 para aminoácidos); entonces, los aciertos de palabra a bases de datos se extienden en ambas direcciones.

IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS "DESCONOCIDAS"

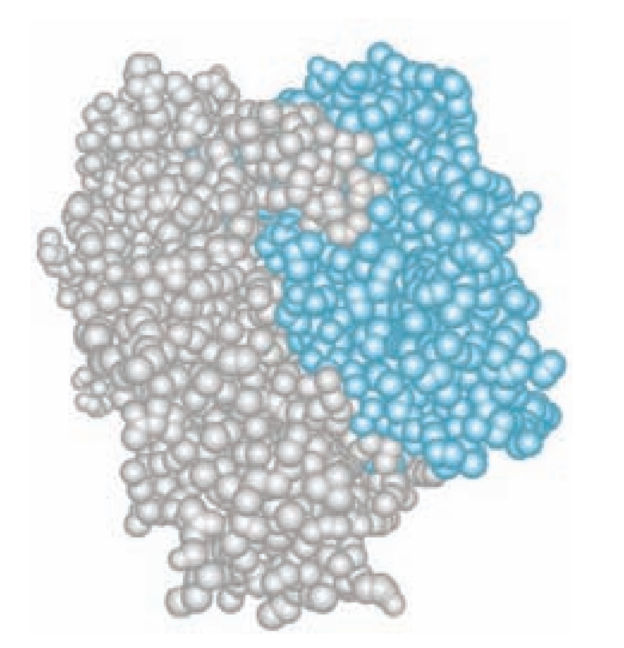
Una porción considerable de los genes descubiertos mediante proyectos de secuenciación de genomas codifican para proteínas "desconocidas" o hipotéticas, proteínas de función o estructura desconocida, para las cuales se carece de homólogos de función conocida. Los científicos bioinformáticos están creando instrumentos para permitir a otros científicos deducir, a partir de las secuencias de aminoácidos de proteínas desconocidas, su estructura tridimensional y función. Hoy, la lista de proteínas desconocidas descubiertas por medio de genómica contiene miles de entradas; se están añadiendo nuevas entradas conforme se resuelven más secuencias del genoma. La capacidad para generar estructuras e inferir la función en forma de programas informáticos promete acelerar de modo importante la identificación de proteína, y proporcionar información acerca del mecanismo mediante el cual las proteínas se pliegan. Este conocimiento ayudará a entender los mecanismos subyacentes de diversas enfermedades que dependen del plegado de proteínas, y ayudará a los ingenieros moleculares a diseñar nuevas proteínas para efectuar funciones nuevas.

La comparación de proteínas cuyas estructuras tridimensionales se han determinado por medio de cristalografía con rayos X o espectroscopia con NMR puede revelar modelos que enlazan características de secuencia primaria específicas con estructuras primaria, secundaria y terciaria específicas, a veces llamado código de plegado. En los primeros algoritmos se usó la frecuencia con la cual existían aminoácidos individuales en hélices α, hojas β, giros y asas, para predecir la topografía de estructura secundaria de un polipéptido. Por ejemplo, se predijo que un segmento de secuencia de proteína con alto contenido de aminoácidos a menudo encontrado en hélices α adopta esta conformación. Al extender este proceso, por ejemplo, al sopesar las repercusiones de interacciones hidrofóbicas en la formación del centro de la proteína, se están creando algoritmos de notoria fiabilidad predictiva. Con todo, si bien los programas actuales tienen buen desempeño en la generación de las conformaciones de proteínas formadas de dominios únicos, aún es problemático proyectar la estructura probable de proteínas de membrana y las compuestas de múltiples dominios.

Los científicos también están intentando discernir modelos entre la estructura tridimensional y la función fisiológica. Cuando es posible determinar o predecir una estructura tridimensional completa, la superficie de la proteína se puede escanear para determinar los tipos de bolsas y hendiduras indicativos de probables sitios de unión para sustratos, efectores alostéricos, etc. La forma de la bolsa y la distribución de los aminoácidos hidrofóbicos, hidrofílicos y en potencia cargados dentro de ella pueden usarse entonces para inferir la estructura de la biomolécula que se une o se "acopla" en ese sitio. La representación llenadora de espacio de la enzima HMG-CoA reductasa y su complejo con el medicamento lovastatina (fig. 10-2), proporciona cierta perspectiva acerca de los desafíos inherentes a la identificación de sitios de unión a ligando a partir de cero.

DISEÑO DE FÁRMACOS AUXILIADO POR COMPUTADORA

En el ***C**omputer-**A**ided **D**rug **D**esign* **(CADD)** se emplea el mismo tipo de algoritmos de acoplamiento molecular usados para identificar ligandos para proteínas desconocidas. Aun así, en este caso el conjunto de ligandos potenciales por considerar no se confina a los que existen en la naturaleza, y es auxiliado mediante el conocimien-



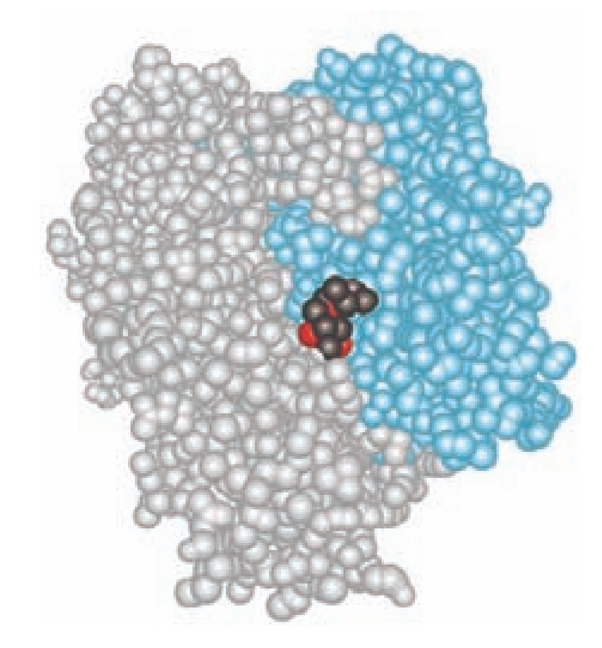


FIGURA 10-2 Representaciones de llenado de espacio de la HMG-CoA reductasa homodimérica de *Pseudomonas mevalonii* con **(derecha)** y sin **(izquierda)** el medicamento estatina lovastatina unido. Cada átomo está representado por una esfera del tamaño de su radio de Waals. Las dos cadenas polipeptídicas están resaltadas con color gris y azul. Los átomos de carbono de la lovastatina se muestran con color negro, y los átomos de oxígeno en rojo. Compare este modelo con las representaciones de esqueleto de proteínas mostradas en los capítulos 5 y 6. (Adaptado de Protein Data Bank ID no. 1t02.)

to empírico de la estructura o de las características funcionales de la proteína establecida como objetivo.

Para proteínas de estructura tridimensional conocida, en los métodos de acoplamiento molecular se emplean programas que intentan adaptar una serie de ligandos potenciales "clavijas" hacia un sitio de unión designado "agujero" en la plantilla de una proteína. Para identificar ligandos óptimos, los programas de acoplamiento han de tomar en cuenta tanto la coincidencia de formas como atributos hidrofóbicos, hidrofílicos y de carga complementarios. Las afinidades de unión de los inhibidores seleccionados con base en estudios de acoplamiento tempranos fueron desalentadoras, dado que los modelos rígidos para proteínas y ligandos empleados fueron incapaces de replicar los cambios conformacionales que sobrevienen tanto en el ligando como en la proteína como una consecuencia de unión, fenómeno denominado adaptación inducida (cap. 7).

Como quiera que sea, dotar a proteínas y ligandos de flexibilidad conformacional requiere de un poder de computación masivo. De esta manera, se han creado métodos híbridos que emplean un conjunto de plantillas que representan conformaciones un poco diferentes de la proteína (fig. 10-3) y conjuntos de conformadores de ligando (fig. 10-4) o ligandos en los cuales sólo se permite que algunos enlaces seleccionados roten con libertad. Una vez que se ha estrechado el conjunto de ligandos potenciales, es posible emprender análisis de acoplamiento más complejos para identificar ligandos de afinidad alta capaces de interactuar con su blanco proteínico a través del espectro de estados conformacionales de este último.

Cuando no se dispone de plantilla estructural para la proteína de interés, es factible emplear computadoras para ayudar a la búsqueda de inhibidores de alta afinidad al calcular y proyectar

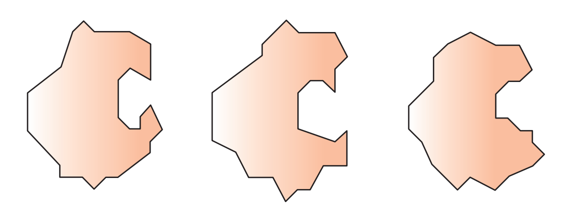


FIGURA 10-3 Representación bidimensional de un grupo de conformadores de una proteína. Note de qué modo la forma del sitio de unión cambia.

vínculos entre estructura y actividad (SAR). Las afinidades de unión para varios inhibidores conocidos se comparan y contrastan con el fin de determinar las contribuciones termodinámicas positivas o negativas con las cuales contribuyen características clínicas específicas para la unión a ligando. Esta información se usa para identificar compuestos que ofrecen la mejor combinación de características.

BIOLOGÍA DE SISTEMAS Y CÉLULAS VIRTUALES

¿Qué sucedería si con sólo ingresar la consulta apropiada en una computadora, un científico pudiera detectar, en pocos momentos, el efecto de inhibir una enzima particular, o remplazar a un gen determinado, la respuesta de una célula muscular a la insulina, la proliferación de una célula cancerosa, o la producción de amiloide β? El objetivo de la **biología de sistemas** es construir modelos de compu-

FIGURA 10-4 Conformadores de un ligando simple. Se muestran tres de las muchas conformaciones de la glucosa, por lo común llamadas silla **(arriba)**, bote retorcido (*twist boat*) **(en medio)** y media silla **(abajo).** Note las diferencias no sólo en la forma y lo compacto, sino también en la posición de los grupos hidroxilo, los participantes potenciales en enlaces de hidrógeno, como se pone de relieve en color rojo.

tadora que reproduzcan con fidelidad y predigan la conducta de unidades funcionales específicas que varían desde las enzimas y los metabolitos en una vía biosintética, pasando por la red de proteínas que controla el ciclo de división celular, hasta células y organismos enteros.

Al construir redes moleculares virtuales, los científicos han logrado determinar de qué modo las cianobacterias construyen un reloj circadiano fiable usando sólo cuatro proteínas. Modelos de la vía de emisión de señales de receptor de célula T han revelado de qué manera estos circuitos moleculares se han ordenado para producir respuestas parecidas a conmutador en el momento de la estimulación por complejos de péptido agonista-complejo principal de histocompatibilidad (MHC) sobre una célula presentadora de antígeno. Del mismo modo que una persona construye un rompecabezas, en parte, al buscar en las piezas restantes coincidencias con los vacíos en el rompecabezas, los científicos también pueden usar los vacíos encontrados en el modelado de sistemas moleculares y celulares para guiar la identificación y anotación de las piezas de proteína restantes. Este método de ingeniería inversa se ha usado con buenos resultados para definir la función de las glicerato 2-cinasas tipo II en bacterias, y para identificar genes "faltantes" que codifican para la síntesis y el transporte de folato en plantas. Recientemente, los científicos han logrado crear de manera exitosa una red metabólica sostenible, compuesta de cerca de 200 proteínas, un paso importante hacia la creación de una **célula virtual**.

El "Santo Grial" de los biólogos de sistemas es replicar la conducta de células humanas vivas en forma de programas informáticos. Los beneficios potenciales de esas células virtuales serán enormes. No sólo permitirán identificar sitios óptimos para intervención terapéutica de un modo rápido y sin sesgos, sino que los efectos secundarios no intencionales pueden revelarse antes de la decisión de invertir tiempo y recursos en la síntesis, el análisis y los estudios de un farmacóforo potencial. La capacidad para efectuar investigación toxicológica rápida y económica de materiales que varían desde herbicidas hasta cosméticos beneficiará la salud de los seres humanos. Las células virtuales también son útiles en el diagnóstico. Al manipular una célula virtual para que reproduzca el perfil metabólico de un enfermo, quizá se revelen anormalidades genéticas subyacentes. Es factible analizar de manera sistemática la interrelación de los diversos factores ambientales, de la dieta y genéticos que contribuyen a enfermedades multifactoriales como el cáncer. Estudios preliminares de terapias génicas potenciales pueden evaluarse con seguridad y rapidez en forma de programas informáticos.

La duplicación de una célula viva en forma de programas informáticos representa una empresa en extremo formidable. No sólo es necesario que la célula virtual posea todas las proteínas y todos los metabolitos para el tipo de célula que se va a modelar (p. ej., de cerebro, hígado, nervio, músculo o adipocito), sino que éstos deben estar presentes en la concentración y la ubicación subcelular apropiadas. El modelo también ha de tomar en cuenta la dinámica funcional de sus componentes, afinidades de unión, eficiencia catalítica, modificaciones covalentes, etc. Hacer a una célula virtual capaz de dividirse o diferenciarse conllevará otro enorme salto de complejidad y sofisticación.

CONCLUSIÓN

Los campos en rápida evolución de la bioinformática y la biología computacional hacen promesas sin precedente para el futuro tanto de la medicina como de la biología básica. Algunas promesas en la actualidad se perciben de manera clara, otras vagamente, mientras que algunas más ni siquiera se han imaginado. Un objetivo importante de los biólogos computacionales es crear recursos de computadora que incrementarán la eficiencia, eficacia y rapidez de la creación de medicamentos. Parece haber pocas dudas respecto de que sus repercusiones sobre el ejercicio de la medicina durante el siglo xxi igualarán o sobrepasarán las del descubrimiento de la patogenia bacteriana en el siglo xix.

RESUMEN

- La genómica ha proporcionado una cantidad masiva de información de gran valor potencial para científicos y médicos.
- La bioinformática comprende el diseño de algoritmos de computadora y la construcción de bases de datos que permiten a los científicos tener acceso a la avalancha creciente de datos biomédicos y analizarlos.
- Los desafíos importantes en la construcción de bases de datos fáciles de emplear incluyen idear medios para almacenar y organizar datos complejos que se adaptan a una amplia gama de criterios de búsqueda potenciales.
- El objetivo del *Encode Project* es identificar todos los elementos funcionales dentro del genoma humano.
- Las bases de datos HapMap, *Entrez* Gene y dbGAP contienen datos respecto del vínculo entre mutaciones genéticas y estados patológicos.
- En la biología computacional se usan algoritmos de computadora para identificar proteínas desconocidas y llevar a cabo experimentos virtuales.
- BLAST se usa para identificar proteínas y genes desconocidos al buscar homólogos de secuencia de función conocida.

- Los biólogos computacionales están creando programas que predecirán la estructura tridimensional de proteínas directamente a partir de su secuencia primaria.
- El diseño ayudado por computadora acelera el descubrimiento de fármacos al tratar de acoplar inhibidores potenciales a blancos proteínicos seleccionados en forma de programas informáticos.
- Un objetivo principal de los biólogos de sistemas es crear modelos eles de vías y redes individuales para dilucidar principios funcionales y efectuar experimentos virtuales.
- El objetivo nal de los biólogos de sistemas es crear células virtuales que puedan usarse para diagnosticar y tratar enfermedades con mayor seguridad y e ciencia, en especial las de una naturaleza multifactorial.

REFERENCIAS

Altschul, SF et al: Basic local alignment search tool. J Mol Biol 1990;215:403.

Carroll SB: Genetics and the making of *Homo sapiens*. Nature 2003;422:849.

Collins FS, Barker AD: Mapping the human cancer genome. Sci Am 2007;296:50.

Collins FS et al: A vision for the future of genomics research. A blueprint for the genomic era. Nature 2003;422:835.

Couzin J: e HapMap gold rush: researchers mine a rich deposit. Science 2006;312:1131.

Cravat BF et al: Activity-based protein pro ling: from enzyme chemistry to proteomic chemistry. Annu Rev Biochem 2008;77:383.

Debes JD, Urrutia R: Bioinformatics tools to understand human diseases. Surgery 2004;135:579.

Dill KA et al: e protein folding problem: when will it be solved? Curr Opin Struct Biol 2007;17:342.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. Br J Pharmacol 2007;152:21.

Ekins S, Mestres J, Testa B: *In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and pro ling. Br J Pharmacol 2007;152:9.

Hotopp JCD et al: Comparative genomics of *Neisseria meningitides:* core genome, islands of horizontal transfer and pathogen-speci c genes. Microbiology 2006;152:3733.

Kim JH: Bioinformatics and genomic medicine. Genet Med 2002;4:62S.

Koonin EV, Galperin MY: *Sequence—Evolution—Function. Computational Approaches to Comparative Genomics*. Kluwer Academic Publishers, 2003.

McInnes C: Virtual screening strategies in drug discovery. Curr Opin Cell Biol 2007;11:494.

Sansom C: Genes and disease. e Scientist 2008;30:34.

Slepchencko BM et al: Quantitative cell biology with the Virtual Cell. Trends Cell Biol 2003;13:570.

Villoutreix BO et al: Free resources to assist structure-based virtual ligand screening experiments. Curr Protein Pept Sci 2007;8:381.

SECCIÓN II BIOENERGÉTICA Y EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS Y LÍPIDOS

CAPÍTULO

11

Bioenergética: la función del ATP

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La bioenergética, o termodinámica bioquímica, es el estudio de los cambios de energía que acompañan a reacciones bioquímicas. Los sistemas biológicos son en esencia **isotérmicos** y usan energía química para impulsar procesos vivos. El modo en que un animal obtiene combustible idóneo a partir de sus alimentos para proporcionar esta energía es básico para el entendimiento de la nutrición y el metabolismo normales. La muerte por **inanición** ocurre cuando se agotan las reservas de energía disponibles, y ciertas formas de malnutrición se relacionan con desequilibrio de energía (**marasmo**). Las hormonas tiroideas controlan el índice de liberación de energía (índice metabólico) y sobreviene enfermedad cuando funcionan mal. El almacenamiento excesivo de energía excedente causa **obesidad**, misma que es cada vez más común en la sociedad occidental, padecimiento que predispone a muchas enfermedades, como enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2, además de que disminuye la esperanza de vida del individuo.

LA ENERGÍA LIBRE ES LA ENERGÍA ÚTIL EN UN SISTEMA

El cambio de energía libre de Gibbs (ΔG) es la porción del cambio de energía total en un sistema que está disponible para desempeñar trabajo, es decir, la energía útil, también conocida como el potencial químico.

Los sistemas biológicos se conforman a las leyes generales de la termodinámica

La primera ley de la termodinámica establece que **la energía total de un sistema, incluso sus alrededores, permanece constante**. Eso implica que dentro del sistema total, la energía no se pierde ni se gana durante cambio alguno; sin embargo, sí se puede transferir de una porción del sistema a otra, o transformarse en otra forma de energía. En sistemas vivos, la energía química se transforma hacia calor o hacia energías eléctrica, radiante o mecánica.

La segunda ley de la termodinámica establece que **para que un proceso ocurra de manera espontánea, es necesario que la entropía total de un sistema aumente**. La **entropía** es la extensión de trastorno o de aleatoriedad del sistema y alcanza su punto máximo conforme alcanza el equilibrio. En condiciones de temperatura y presión constantes, el vínculo entre el cambio de energía libre (ΔG) de un sistema que está reaccionando y el cambio de entropía (ΔS) se expresa por medio de la ecuación que sigue, que combina las dos leyes de la termodinámica:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

donde ΔH es el cambio de la **entalpía** (calor) y T es la temperatura absoluta.

En reacciones bioquímicas, dado que ΔH es aproximadamente igual a ΔE, el cambio total de energía interna de la reacción, la relación anterior puede expresarse como sigue:

$$\Delta G = \Delta E - T\Delta S$$

Si ΔG es negativa, la reacción procede de modo espontáneo con pérdida de la energía libre; esto es, es **exergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, la reacción avanza casi hasta completarse y es, en esencia, irreversible. Por otra parte, si ΔG es positiva, la reacción sólo procede si es factible ganar energía libre; de modo que es **endergónica**. Si, además, ΔG es de gran magnitud, el sistema es estable, con poca o ninguna tendencia a que ocurra una reacción. Si ΔG es de cero, el sistema está en equilibrio y no tiene lugar un cambio neto.

Cuando los reactivos están presentes en concentraciones de 1.0 mol/L, ΔG^0 es el cambio de energía libre estándar. Para reacciones bioquímicas, un estado estándar es definido como tener un pH de 7.0. El cambio de energía libre estándar a tal estado estándar es indicado por $\Delta G^{0'}$.

El cambio de energía libre estándar puede calcularse a partir de la constante de equilibrio K_{eq}.

$$\Delta G^{0'} = - RT \ln K'_{eq}$$

donde R es la constante gaseosa y T es la temperatura absoluta (cap. 8). Es importante notar que la ΔG real puede ser mayor o menor que $\Delta G^{0'}$, según las concentraciones de los diversos reactivos, incluso el solvente, diversos iones y proteínas.

En un sistema bioquímico, una enzima sólo acelera el logro del equilibrio; nunca altera las concentraciones finales de los reactivos en equilibrio.

LOS PROCESOS ENDERGÓNICOS PROCEDEN POR MEDIO DE ACOPLAMIENTO A PROCESOS EXERGÓNICOS

Los procesos vitales —p. ej., reacciones sintéticas, contracción muscular, conducción de impulsos nerviosos, transporte activo— obtienen energía mediante enlace químico, o **acoplamiento**, a reacciones oxidativas. En su forma más simple, este tipo de acoplamiento puede representarse como lo muestra la figura 11-1. La conversión del metabolito A en el metabolito B ocurre con liberación de energía libre y está acoplada a otra reacción en la cual se requiere energía libre para convertir el metabolito C en el metabolito D. Los términos **exergónico** y **endergónico**, en lugar de los términos químicos normales "exotérmico" y "endotérmico", indican que un proceso está acompañado de pérdida o ganancia, respectivamente, de energía libre en cualquier forma, no siempre como calor. En la práctica, un proceso endergónico no puede existir de manera independiente, sino que debe ser un componente de un sistema exergónico-endergónico acoplado donde el cambio neto general es exergónico. Las reacciones exergónicas reciben el nombre de **catabolismo** (en general, la desintegración u oxidación de moléculas de combustible), en tanto que las reacciones sintéticas que acumulan sustancias se llaman **anabolismo**; los procesos catabólico y anabólico combinados constituyen el **metabolismo**.

Si la reacción que se muestra en la figura 11-1 va de izquierda a derecha, el proceso general debe acompañarse de pérdida de energía libre como calor. Un mecanismo posible de acoplamiento podría imaginarse si un intermediario (I) obligatorio común tomó parte en ambas reacciones, esto es,

$$A + C \rightarrow I \rightarrow B + D$$

Algunas reacciones exergónicas y endergónicas en sistemas biológicos están acopladas de este modo. Este tipo de sistema tiene un mecanismo integrado para el control biológico del índice de procesos oxidativos, puesto que el intermediario obligatorio común permite que el índice de utilización del producto de la vía sintética (D) determine mediante acción de masa el índice al cual se oxida A. En realidad, estos vínculos proporcionan una base para el concepto de **control respiratorio**, el proceso que evita que un organismo se consuma fuera de control. Las reacciones de deshidrogenación, que están acopladas a hidrogenaciones por medio de un acarreador intermedio (fig. 11-2), proporcionan una extensión del concepto de acoplamiento.

Un método alternativo de acoplar un proceso exergónico a uno endergónico es sintetizar un compuesto de alta energía potencial en la reacción exergónica, e incorporar este nuevo compuesto hacia la reacción endergónica, lo que efectúa una transferencia de energía libre desde la vía exergónica hacia la endergónica (fig. 11-3). La ventaja biológica de este mecanismo es que el compuesto de energía

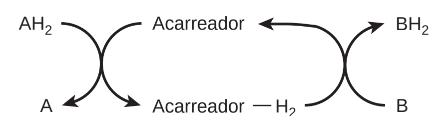


FIGURA 11-2 Acoplamiento de reacciones de deshidrogenación e hidrogenación por medio de un acarreador intermedio.

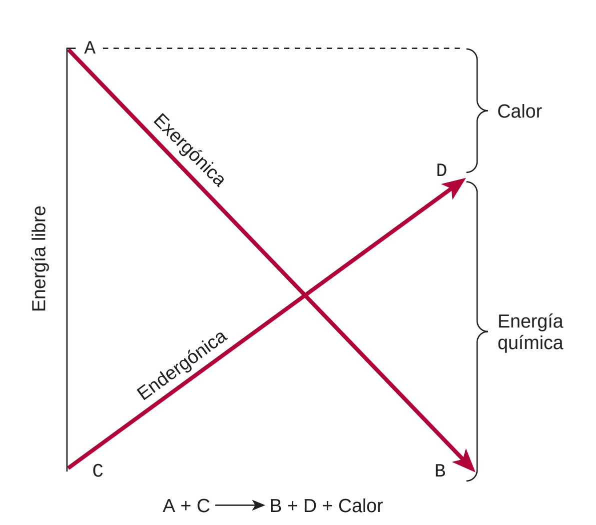


FIGURA 11-1 Acoplamiento de una reacción exergónica a una endergónica.

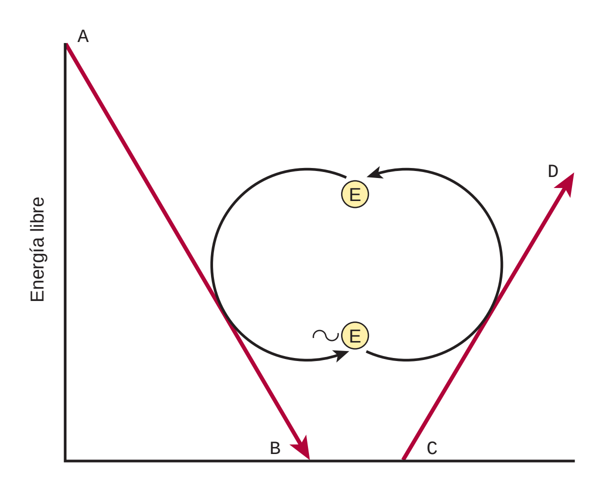


FIGURA 11-3 Transferencia de energía libre desde una reacción exergónica hacia una endergónica mediante un compuesto intermedio de alta energía (~ E).

potencial alta, ~E, al contrario de I en el sistema previo, no necesita estar relacionado de modo estructural con A, B, C o D, lo que permite que E sirva como un transductor de energía desde una amplia gama de reacciones endergónicas hacia una gama igual de amplia de reacciones o procesos endergónicos, como biosíntesis, contracción muscular, excitación nerviosa y transporte activo. En la célula viva, el principal intermediario de alta energía o compuesto acarreador (designado ~E en la figura 11-3), es el **trifosfato de adenosina (ATP)**.

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA TIENEN UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN LA CAPTACIÓN Y LA TRANSFERENCIA DE ENERGÍA

A fin de mantener procesos vivos, todos los organismos deben obtener energía libre desde su ambiente. Los organismos **autotróficos** utilizan procesos exergónicos simples; por ejemplo, la energía de la luz solar (plantas verdes), la reacción $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$ (algunas bacterias). Por otra parte, los organismos **heterotróficos** obtienen energía libre al acoplar su metabolismo a la desintegración de moléculas orgánicas complejas en su ambiente. En todos estos organismos, el ATP tiene una función fundamental en la transferencia de energía libre desde los procesos exergónicos hacia los endergónicos (fig. 11-3). El ATP es un nucleósido trifosfato que contiene adenina, ribosa y tres grupos fosfato. En sus reacciones en la célula, funciona como el complejo de Mg^{2+} (fig. 11-4).

La importancia de los fosfatos en el metabolismo intermediario se hizo evidente con el descubrimiento de la función del ATP, difosfato de adenosina (ADP) y fosfato inorgánico (P_i) en la glucólisis (cap. 18).

El valor intermedio para la energía libre de hidrólisis del ATP tiene gran importancia bioenergética

El cuadro 11-1 muestra la energía libre estándar de la hidrólisis de diversos fosfatos importantes desde el punto de vista bioquímico. Un estimado de la tendencia comparativa de cada uno de los grupos fosfato para transferir hacia un aceptor idóneo puede obtenerse a partir de la $\Delta G^{0'}$ de la hidrólisis a 37°C. El valor para la hidrólisis del fosfato terminal del ATP divide la lista en dos grupos. Los **fosfatos de baja energía**, ejemplificados por los fosfatos éster que se encuentran en los intermediarios de la glucólisis, tienen valores de $G^{0'}$ menores que los del ATP, mientras que en los **fosfatos de alta energía** el valor es mayor que el del ATP. Los componentes de este último grupo, incluso el ATP, por lo general son anhídridos (p. ej., el 1-fosfato del 1,3-bisfosfoglicerato), enolfosfatos (p. ej., fosfoenolpiruvato) y fosfoguanidinas (p. ej., creatina fosfato, arginina fosfato). La posición intermedia del ATP permite que desempeñe una función importante en la transferencia de energía. El cambio de energía libre en el momento de la hidrólisis del ATP se debe a alivio de la repulsión de carga de átomos de oxígeno adyacentes que tienen carga negativa, y a estabilización de los productos de la reacción, en especial fosfato, como híbridos de resonancia. Otros "compuestos de alta energía" son ésteres tiol que incluyen a la coenzima A (p. ej., acetil-CoA), proteína acarreadora de acilo, y ésteres aminoácidos comprendidos en la síntesis de proteína, *S*-adenosilmetionina (metionina activa), UDPGlc (uridina difosfato glucosa) y PRPP (5-fosforribosil-1-pirofosfato).

FIGURA 11-4 El trifosfato de adenosina (ATP) mostrado como el complejo de magnesio. El ADP forma un complejo similar con Mg^{2+}.

CUADRO 11-1 Energía libre estándar de hidrólisis de algunos organofosfatos de importancia bioquímica

Compuesto	$\Delta G^{0'}$ kJ/mol	$\Delta G^{0'}$ kcal/mol
Fosfoenolpiruvato	−61.9	−14.8
Carbamoil fosfato	−51.4	−12.3
1,3-bisfosfoglicerato (a 3-fosfoglicerato)	−49.3	−11.8
Creatina fosfato	−43.1	−10.3
ATP → AMP + PP_i	−32.2	−7.7
ATP → ADP + P_i	−30.5	−7.3
Glucosa 1-fosfato	−20.9	−5.0
PP_i	−19.2	−4.6
Fructuosa 6-fosfato	−15.9	−3.8
Glucosa 6-fosfato	−13.8	−3.3
Glicerol 3-fosfato	−9.2	−2.2

Abreviaturas: PP_i, pirofosfato inórganico; P_i, ortofosfato inorgánico.

Nota: Todos los valores tomados de Jencks (1976), excepto los valores para el PP_i, que son de Frey y Arabshahi (1995). Los valores difieren entre investigadores, según las condiciones precisas en las cuales se hicieron las mediciones.

Los fosfatos de alta energía se designan mediante ~P

El símbolo ~P indica que el grupo fijo al enlace, en el momento de transferencia hacia un aceptor apropiado, da por resultado la transferencia de la cantidad más grande de energía libre. Por este motivo, algunos prefieren el término **potencial de transferencia de grupo**, más que "enlace de alta energía". De esta manera, el ATP contiene dos grupos fosfato de alta energía y el ADP contiene uno, mientras que el fosfato en el AMP (monofosfato de adenosina) es del tipo de baja energía, porque es un enlace éster normal (fig. 11-5).

Adenosina — O — P(O^-)(=O) — O∼P(O^-)(=O) — O∼P(O^-)(=O) — O^-

o Adenosina — Ⓟ∼Ⓟ∼Ⓟ

Trifosfato de adenosina (ATP)

Adenosina — O — P(O^-)(=O) — O∼P(O^-)(=O) — O^-

o Adenosina — Ⓟ∼Ⓟ

Difosfato de adenosina (ADP)

Adenosina — O — P(O^-)(=O) — O^-

o Adenosina — Ⓟ

Monofosfato de adenosina (AMP)

FIGURA 11-5 Estructura del ATP, ADP y AMP, que muestra la posición y el número de fosfatos de alta energía (~ P).

LOS FOSFATOS DE ALTA ENERGÍA ACTÚAN COMO LA "MONEDA DE ENERGÍA" DE LA CÉLULA

El ATP puede actuar como un donador de fosfato de alta energía para formar los compuestos que están por debajo del mismo en el cuadro 11-1. De igual modo, con las enzimas necesarias, el ADP puede aceptar fosfato de alta energía para formar ATP a partir de los compuestos que se hallan por arriba del ATP en el cuadro. En efecto, un **ciclo de ATP/ADP** conecta los procesos que generan ~ P con los procesos que lo utilizan (fig. 11-6), lo que consume y regenera ATP de manera continua. Esto sobreviene a un índice muy rápido, dado que el fondo común total de ATP/ADP es en extremo pequeño, y suficiente para mantener un tejido activo sólo algunos segundos.

Hay tres fuentes principales de ~ P que participan en la **conservación de energía** o **captación de energía:**

1. **Fosforilación oxidativa:** la mayor fuente cuantitativa de ~ P en organismos aerobios. La energía libre proviene de la oxidación de la cadena respiratoria usando O_2 molecular dentro de las mitocondrias (cap. 12).
2. **Glucólisis:** una formación neta de dos ~ P depende de la formación de lactato a partir de una molécula de glucosa, generada en dos reacciones catalizadas por fosfoglicerato cinasa y piruvato cinasa, respectivamente (fig. 18-2).
3. **El ciclo del ácido cítrico:** se genera un ~ P de modo directo en el ciclo en el paso de la succinato tiocinasa (fig. 17-3).

Los **fosfágenos** actúan como formas de almacenamiento de fosfato de alta energía, e incluyen creatina fosfato, que se encuentra en el músculo estriado, el corazón, los espermatozoides y el cerebro de vertebrados, y arginina fosfato, que existe en el músculo de invertebrados. Cuando se está utilizando con rapidez ATP como una

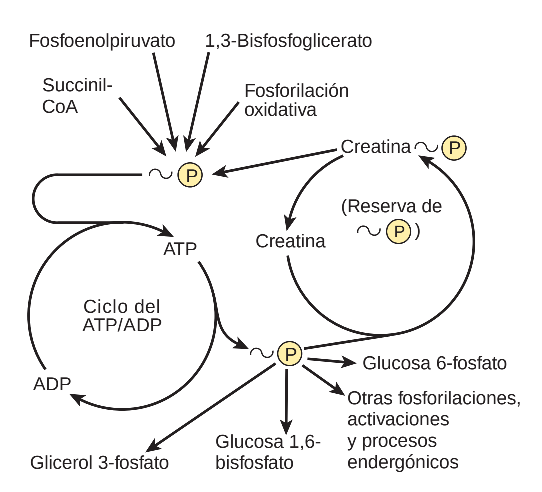


FIGURA 11-6 Función del ciclo del ATP/ADP en la transferencia de fosfato de alta energía.

fuente de energía para la contracción muscular, los fosfágenos permiten que sus concentraciones se mantengan, pero cuando la proporción ATP/ADP es alta, su concentración puede incrementarse para actuar como una reserva de fosfato de alta energía (fig. 11-7).

Cuando el ATP actúa como un donador de fosfato para formar los compuestos de energía libre más baja de hidrólisis (cuadro 11-1), el grupo fosfato siempre se convierte en uno de baja energía, por ejemplo,

Glicerol + Adenosina — Ⓟ∼Ⓟ∼Ⓟ —(GLICEROL CINASA)→ Glicerol — Ⓟ + Adenosina — Ⓟ∼Ⓟ

El ATP permite el acoplamiento de reacciones desfavorables en el aspecto termodinámico, a favorables

La fosforilación de glucosa hacia glucosa-6-fosfato, la primera reacción de la glucólisis (fig. 18-2), es muy endergónica y no puede proceder en condiciones fisiológicas.

$$\text{Glucosa} + P_i \rightarrow \text{Glucosa 6-fosfato} + H_2O \quad (1)$$

$$(\Delta G^{0'} = +13.8 \text{ kJ/mol})$$

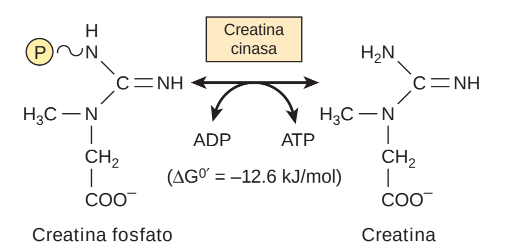


FIGURA 11-7 Transferencia de fosfato de alta energía entre ATP y creatina.

Para que tenga lugar, la reacción debe acoplarse con otra reacción —más exergónica—, como la hidrólisis del fosfato terminal del ATP.

$$ATP \rightarrow ADP + P_i \ (\Delta G^{0'} = -30.5 \text{ kJ/mol}) \quad (2)$$

Cuando (1) y (2) se acoplan en una reacción catalizada por hexocinasa, la fosforilación de la glucosa procede con facilidad en una reacción muy exergónica que en condiciones fisiológicas es irreversible. Muchas reacciones de "activación" siguen este modelo.

La adenilil cinasa (miocinasa) interconvierte nucleótidos adenina

Dicha enzima está presente en casi todas las células. Cataliza la reacción que sigue:

ADENILIL CINASA

$$ATP + AMP \leftrightarrow 2ADP$$

Esto permite que:

1. El fosfato de alta energía en el ADP se use en la síntesis de ATP.
2. El AMP, formado como consecuencia de varias reacciones de activación que comprenden ATP, se recupere mediante refosforilación hacia ADP.
3. Aumente la concentración de AMP cuando el ATP se agota y actúa como una señal metabólica (alostérica) para incrementar el índice de reacciones catabólicas, que a su vez llevan a la generación de más ATP (cap. 20).

Cuando el ATP forma AMP, se produce pirofosfato inorgánico (PP_i)

El ATP también puede hidrolizarse de manera directa hacia AMP, con la liberación de PP_i (cuadro 11-1). Esto sucede, por ejemplo, en la activación de ácidos grasos de cadena larga (cap. 22):

ACIL-CoA SINTETASA

$$ATP + CoA \cdot SH + R \cdot COOH \rightarrow AMP + PP_i + R \cdot CO — SCoA$$

Esta reacción se acompaña de pérdida de energía libre como calor, lo que asegura que la reacción de activación irá hacia la derecha, y se auxilia más por la división hidrolítica del PP_i, catalizada por **pirofosfatasa inorgánica**, una reacción que en sí tiene una $\Delta G^{0'}$ grande, de –19.2 kJ/mol. Note que las activaciones por medio de la vía del pirofosfato dan por resultado la pérdida de dos ~P más que de uno, como ocurre cuando se forman ADP y P_i.

FOSFATASA INORGÁNICA

$$PP_i + H_2O \rightarrow 2P_i$$

Una combinación de las reacciones anteriores hace posible que el fosfato se recicle y que los nucleótidos adenina se intercambien (fig. 11-8).

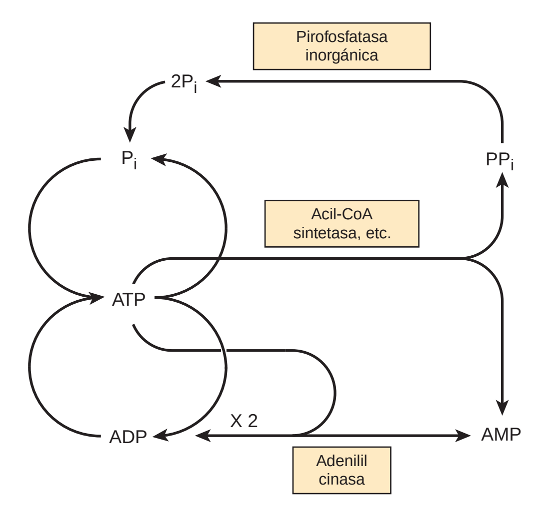


FIGURA 11-8 Ciclos del fosfato e intercambio de nucleótidos adenina.

Otros nucleósidos trifosfato participan en la transferencia de fosfato de alta energía

Mediante la enzima **nucleósido difosfato cinasa** pueden sintetizarse UTP, GTP y CTP a partir de sus difosfatos, por ejemplo,

NUCLEÓSIDO DIFOSFATO CINASA

$$ATP + UDP \leftrightarrow ADP + UTP$$

(trifosfato de uridina)

Todos estos trifosfatos participan en fosforilaciones en la célula. De modo similar, nucleósido monofosfato cinasas específicas catalizan la formación de nucleósido difosfatos a partir de los monofosfatos correspondientes.

NUCLEÓSIDO MONOFOSFATO CINASAS ESPECÍFICAS

$$ATP + \text{Nucleósido} — (P) \leftrightarrow ADP + \text{Nucleósido} — (P) \sim (P)$$

De esta manera, la adenilil cinasa es una monofosfato cinasa especializada.

RESUMEN

- En los sistemas biológicos se utiliza energía química para impulsar procesos vivos.
- Las reacciones exergónicas tienen lugar de modo espontáneo, con pérdida de energía libre (ΔG es negativa). Las reacciones endergónicas requieren la ganancia de energía libre (ΔG es positiva) y sólo ocurren cuando se acoplan a reacciones exergónicas.
- El ATP actúa como la "moneda de energía" de la célula, al transferir energía libre derivada de sustancias de potencial de energía superior hacia las de potencial de energía inferior.

REFERENCIAS

de Meis L: e concept of energy-rich phosphate compounds: water, transport ATPases, and entropy energy. Arch Biochem Biophys 1993;306:287.

Frey PA, Arabshahi A: Standard free-energy change for the hydrolysis of the alpha, beta-phosphoanhydride bridge in ATP. Biochemistry 1995;34:11307.

Harold FM: e *Vital Force: A Study of Bioenergetics*. Freeman, 1986.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction*. Blackwell Publishing, 1995.

Haynie D: *Biological ermodynamics*. Cambridge University Press, 2008.

Jencks WP: Free energies of hydrolysis and decarboxylation. In: *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, vol 1. *Physical and Chemical Data*. Fasman GD (editor). CRC Press, 1976:296–304.

Klotz IM: *Introduction to Biomolecular Energetics*. Academic Press, 1986.

Nicholls D, Ferguson F: *Bioenergetics*. Elsevier, 2003.

CAPÍTULO

12

Oxidación biológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Desde el punto de vista químico, la **oxidación** se define como la eliminación de electrones, en tanto que la **reducción** es la ganancia de electrones. De este modo, la oxidación siempre se acompaña de reducción de un aceptor de electrón. Este principio de oxidación-reducción aplica por igual a sistemas bioquímicos y es un concepto importante que fundamenta el entendimiento de la naturaleza de la oxidación biológica. Note que muchas oxidaciones biológicas pueden tener lugar sin la participación de oxígeno molecular, p. ej., deshidrogenaciones. La vida de animales superiores depende por completo de un aporte de oxígeno para la **respiración**, el proceso por medio del cual las células obtienen energía en forma de ATP a partir de la reacción controlada de hidrógeno con oxígeno para formar agua. Además, el oxígeno molecular se incorpora hacia diversos sustratos mediante enzimas llamadas **oxigenasas**; muchos fármacos, contaminantes y carcinógenos químicos (xenobióticos) son metabolizados por enzimas de esta clase, conocidas como el **sistema de citocromo P450**. La administración de oxígeno puede salvar la vida en el tratamiento de pacientes con insuficiencia respiratoria o circulatoria.

LOS CAMBIOS DE ENERGÍA LIBRE PUEDEN EXPRESARSE EN TÉRMINOS DE POTENCIAL DE REDOX

En reacciones que conllevan oxidación y reducción, el cambio de energía libre es proporcional a la tendencia de los reactivos a donar electrones o aceptarlos. De esta manera, además de expresar cambio de energía libre en cuanto a $\Delta G^{0\prime}$ (cap. 11), es posible, de un modo análogo, expresarlo de manera numérica como un **potencial de oxidación-reducción** o **redox** (E'_0). El potencial redox de un sistema (E_0) por lo general se compara con el potencial del electrodo de hidrógeno (0.0 voltios a pH de 0.0). Sin embargo, para sistemas biológicos, el potencial redox (E'_0) por lo general se expresa a pH de 7.0, al cual el potencial de electrodo de hidrógeno es de –0.42 voltios. El cuadro 12-1 muestra los potenciales redox de algunos sistemas redox de interés especial en bioquímica de mamíferos. Las posiciones relativas de los sistemas redox en el cuadro permiten predecir la dirección de flujo de electrones desde una pareja redox hacia otra.

Las enzimas comprendidas en oxidación y reducción reciben el nombre de **oxidorreductasas** y se clasifican en cuatro grupos: **oxidasas**, **deshidrogenasas**, **hidroperoxidasas** y **oxigenasas**.

LAS OXIDASAS USAN OXÍGENO COMO UN ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Las oxidasas catalizan la eliminación de hidrógeno desde un sustrato usando oxígeno como un aceptor de hidrógeno.* Forman agua o peróxido de hidrógeno como un producto de reacción (fig. 12-1).

Algunas oxidasas contienen cobre

La **citocromo oxidasa** es una hemoproteína ampliamente distribuida en muchos tejidos, que tiene el grupo prostético hem típico presente en la mioglobina, hemoglobina y otros citocromos (cap. 6). Es el componente terminal de la cadena de acarreadores respiratorios encontrados en mitocondrias (cap. 13) y transfiere electrones originados por la oxidación de moléculas de sustrato por deshidrogenasas hacia su aceptor final, oxígeno. La enzima es envenenada por monóxido de carbono, cianuro y sulfuro de hidrógeno. También se ha denominado "citocromo a_3". Empero, ahora se sabe que el hem a_3 se combina con otro hem, el hem *a*, en una proteína única para formar el complejo de enzima citocromo oxidasa y, así, es más correcto llamarlo **citocromo aa_3**. Contiene dos moléculas de hem, cada una de las cuales tiene un átomo de Fe que oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante oxidación y reducción. Más aún, hay dos átomos de Cu, cada uno relacionado con una unidad hem.

Otras oxidasas son flavoproteínas

Las enzimas flavoproteína contienen **flavina mononucleótido (FMN)** o **flavina adenina dinucleótido (FAD)** como grupos prostéticos. Las FMN y FAD se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **riboflavina** (cap. 44); por lo regular están unidos de modo estrecho —aunque no covalente— a sus proteínas apoenzima respectivas. Las metaloflavoproteínas contienen uno o más metales como cofactores esenciales. Los ejemplos de enzimas flavoproteína son: **L-aminoácido oxidasa**, enzima enlazada a FMN que se encuentra en los riñones con especificidad general por la desaminación oxidativa de los L-aminoácidos que existen de manera natural; **xantina oxidasa**, que contiene molibdeno, es importante en la conversión de bases purina en ácido úrico (cap. 33) y tiene una particular importancia en animales uricotélicos (cap. 28), y **aldehído deshidrogenasa**, enzima enlazada a FAD presente en hígados de mamíferos, que

*El término "oxidasa" a veces se usa de modo colectivo para denotar todas las enzimas que catalizan reacciones que comprenden oxígeno molecular.

CUADRO 12-1 Algunos potenciales redox de interés especial en sistemas de oxidación de mamíferos

Sistema	E'_0 Voltios
H^+/H_2	−0.42
NAD^+/NADH	−0.32
Lipoato; ox/red	−0.29
Acetoacetato/3-hidroxibutirato	−0.27
Piruvato/lactato	−0.19
Oxaloacetato/malato	−0.17
Fumarato/succinato	+0.03
Citocromo *b*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.08
Ubiquinona; ox/red	+0.10
Citocromo c_1; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.22
Citocromo *a*; Fe^{3+}/Fe^{2+}	+0.29
Oxígeno/agua	+0.82

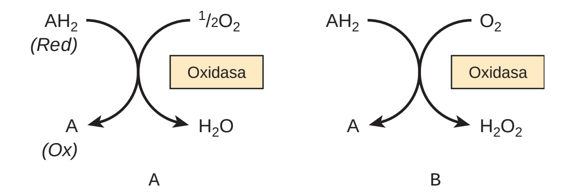


FIGURA 12-1 Oxidación de un metabolito catalizada por una oxidasa **(A)** formando H_2O, **(B)** formando H_2O_2.

contiene molibdeno y hierro no hem, y actúa sobre aldehídos y sustratos N-heterocíclicos. Los mecanismos de oxidación y reducción de estas enzimas son complejos. La evidencia sugiere una reacción de dos pasos (fig. 12-2).

LAS DESHIDROGENASAS NO PUEDEN USAR OXÍGENO COMO ACEPTOR DE HIDRÓGENO

Esta clase incluye un gran número de enzimas. Desempeñan dos funciones principales:

1. Transferencia de hidrógeno desde un sustrato hacia otro en una reacción de oxidación-reducción acoplada (fig. 12-3). Tales deshidrogenasas son específicas para sus sustratos, pero suelen emplear coenzimas o acarreadores de hidrógeno comunes, p. ej., NAD^+. Dado que las reacciones son reversibles, estas propiedades permiten que los equivalentes reductores se transfieran de manera libre dentro de la célula. Este tipo de reacción, la cual permite que un sustrato se oxide a expensas de otro, es de particular utilidad para permitir que ocurran procesos oxidativos en ausencia de oxígeno, como durante la fase anaeróbica de la glucólisis (fig. 18-2).

2. Como componentes en la **cadena respiratoria** del transporte de electrones desde sustrato hacia oxígeno (fig. 13-3).

Muchas deshidrogenasas dependen de coenzimas nicotinamida

Estas deshidrogenasas usan **nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+)** o **nicotinamida adenina dinucleótido fosfato ($NADP^+$)** —o ambos— que se forman en el cuerpo a partir de la vitamina **niacina** (cap. 44). Las coenzimas son reducidas por el sustrato específico de la deshidrogenasa, y reoxidadas por un aceptor de electrón idóneo (fig. 12-4). Pueden disociarse de manera libre y reversible desde sus apoenzimas respectivas.

En general, las **deshidrogenasas ligadas a NAD** catalizan reacciones de oxidorreducción en las vías oxidativas del metabolismo, sobre todo en la glucólisis (cap. 18), en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17), y en la cadena respiratoria de mitocondrias (cap. 13). Las deshidrogenasas enlazadas a NADP se encuentran de modo característico en síntesis reductivas, como en la vía extramitocondrial de la síntesis de ácido graso (cap. 23) y la síntesis de esteroides (cap. 26), y en la vía de la pentosa fosfato (cap. 21).

Otras deshidrogenasas dependen de la riboflavina

Los **grupos flavina** vinculados con estas deshidrogenasas son similares al FMN y FAD que ocurren en oxidasas. Por lo general están más estrechamente unidos a sus apoenzimas que las coenzimas nicotinamida. Casi todas las **deshidrogenasas enlazadas con riboflavina** están relacionadas con el transporte de electrones en (o con) la cadena respiratoria (cap. 13). La **NADH deshidrogenasa** actúa como un acarreador de electrones entre el NADH y los componentes de potencial redox más alto (fig. 13-3). Otras deshidrogenasas, como la **succinato deshidrogenasa, acil-CoA deshidrogenasa** y **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial**, transfieren equi-

FIGURA 12-2 Oxidorreducción de anillo isoaloxazina en nucleótidos flavina mediante un intermediario semiquinona (radical libre) (centro).

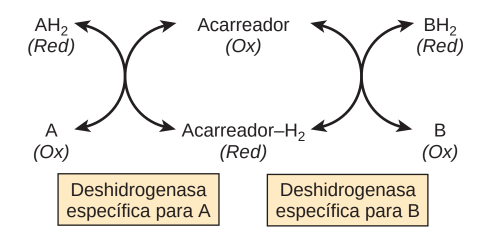


FIGURA 12-3 Oxidación de un metabolito catalizada por deshidrogenasas acopladas.

valentes reductores de manera directa desde el sustrato hacia la cadena respiratoria (fig. 13-5). Otra función de las deshidrogenasas dependientes de flavina estriba en la deshidrogenación (por medio de la **dihidrolipoil deshidrogenasa**) de lipoato reducido, intermediario en la descarboxilación oxidativa de piruvato y α-cetoglutarato (figs. 13-5 y 18-5). La **flavoproteína transferidora de electrones (ETF)** es un acarreador intermediario de electrones entre la acil-CoA deshidrogenasa y la cadena respiratoria (fig. 13-5).

Los citocromos también pueden considerarse deshidrogenasas

Los **citocromos** son hemoproteínas que contienen hierro en las cuales el átomo de hierro oscila entre Fe^{3+} y Fe^{2+} durante la oxidación y reducción. Excepto por la citocromo oxidasa (ya descrita), se clasifican como deshidrogenasas. En la cadena respiratoria, participan como acarreadores de electrones desde flavoproteínas, por un lado, hacia citocromo oxidasa, por el otro (fig. 13-5). Varios citocromos identificables se encuentran en la cadena respiratoria, citocromos *b*, c_1, *c* y citocromo oxidasa. Los citocromos también se encuentran en otras ubicaciones; por ejemplo, el retículo endoplásmico (citocromos P450 y b_5), y en células vegetales, bacterias y levaduras.

LAS HIDROPEROXIDASAS USAN PERÓXIDO DE HIDRÓGENO O UN PERÓXIDO ORGÁNICO COMO SUSTRATO

Dos tipos de enzimas que se encuentran tanto en animales como en vegetales caen dentro de esta categoría: **peroxidasas** y **catalasa**.

Las hidroperoxidasas protegen al cuerpo contra peróxidos perjudiciales. La acumulación de peróxidos puede llevar a la generación de radicales libres, que a su vez llegan a alterar membranas y tal vez causar enfermedades, entre ellas cáncer y aterosclerosis (caps. 15 y 44).

Las peroxidasas reducen peróxidos usando diversos aceptores de electrones

Las peroxidasas se encuentran en la leche y en los leucocitos, las plaquetas y otros tejidos comprendidos en el metabolismo de eicosanoides (cap. 23). El grupo prostético es el protohem. En la reacción catalizada por peroxidasa, el peróxido de hidrógeno se reduce a expensas de varias sustancias que actuarán como aceptores de electrones, como ascorbato, quinonas y citocromo *c*. La reacción catalizada por peroxidasa es compleja, pero la reacción general es como sigue:

$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{PEROXIDASA}} 2H_2O + A$$

En los eritrocitos y otros tejidos, la enzima **glutatión peroxidasa**, que contiene **selenio** como un grupo prostético, cataliza la destrucción del H_2O_2 y de hidroperóxidos lípidos mediante la conversión de glutatión reducido hacia su forma oxidada, lo que protege a los lípidos de membrana y a la hemoglobina contra oxidación por peróxidos (cap. 21).

La catalasa usa peróxido de hidrógeno como donador y aceptor de electrón

La **catalasa** es una hemoproteína que contiene cuatro grupos hem. Además de poseer actividad de peroxidasa, puede emplear una molécula de H_2O_2 como sustrato donador de electrón, y otra molécula de H_2O_2 como un oxidante o aceptor de electrón.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CATALASA}} 2H_2O_2 + O_2$$

$$NAD^+ + AH_2 \longleftrightarrow NADH + H^+ + A$$

FIGURA 12-4 Mecanismo de oxidación y reducción de coenzimas nicotinamida. Hay estereoespecificidad alrededor de la posición 4 de la nicotinamida cuando es reducida por un sustrato AH_2. Uno de los átomos de hidrógeno se elimina del sustrato como un núcleo de hidrógeno con dos electrones (ion hidrido, H^-) y se transfiere hacia la posición 4, donde pueden quedar a fijo en la forma A o en la forma B, de acuerdo con la especificidad determinada por la deshidrogenasa particular que está catalizando la reacción. El hidrógeno restante del par de hidrógeno eliminado del sustrato permanece libre como un ion hidrógeno.

En casi todas las circunstancias *in vivo*, la actividad de peroxidasa de la catalasa parece ser favorecida. La catalasa se encuentra en sangre, médula ósea, mucosas, riñones e hígado. Funciona para destruir el peróxido de hidrógeno formado por la acción de oxidasas. Los **peroxisomas** se encuentran en muchos tejidos, entre ellos el hígado. Tienen alto contenido de oxidasas y de catalasa. De este modo, las enzimas que originan H_2O_2 están agrupadas con la enzima que lo destruye. Con todo, los sistemas de transporte de electrones mitocondrial y microsómico, así como la xantina oxidasa, deben considerarse fuentes adicionales de H_2O_2.

LAS OXIGENASAS CATALIZAN LA TRANSFERENCIA E INCORPORACIÓN DIRECTAS DE OXÍGENO HACIA UNA MOLÉCULA DE SUSTRATO

Las oxigenasas se encargan de la síntesis o degradación de muchos tipos diferentes de metabolitos. Catalizan la incorporación de oxígeno hacia una molécula de sustrato en dos pasos: 1) el oxígeno se une a la enzima en el sitio activo y 2) el oxígeno unido se reduce o transfiere hacia el sustrato. Las oxigenasas pueden dividirse en dos subgrupos: dioxigenasas y monooxigenasas.

Las dioxigenasas incorporan ambos átomos de oxígeno molecular hacia el sustrato

La reacción básica se muestra a continuación:

$$A + O_2 \rightarrow AO_2$$

Los ejemplos son las enzimas hepáticas, **homogentisato dioxigenasa** (oxidasa) y **3-hidroxiantranilato dioxigenasa** (oxidasa) que contienen hierro, y l-**triptófano dioxigenasa** (triptófano pirrolasa) (cap. 29), que utiliza hem.

Las monooxigenasas (oxidasas de función mixta, hidroxilasas) incorporan sólo un átomo de oxígeno molecular hacia el sustrato

El otro átomo de oxígeno se reduce a agua; para este propósito se requiere un donador de electrón adicional o cosustrato (Z).

$$A—H + O_2 + ZH_2 \rightarrow A—OH + H_2O + Z$$

Los citocromos P450 son monooxigenasas importantes para la destoxificación de muchos fármacos y la hidroxilación de esteroides

Los **citocromos P450** son una importante superfamilia de monooxigenasas que contienen hem y en el genoma humano se han encontrado más de 50 de esas enzimas. Estos citocromos están localizados sobre todo en el retículo endoplásmico en hígado e intestino, aunque también se encuentran en las mitocondrias en algunos tejidos. Tanto el NADH como el NADPH donan equivalentes reductores para la reducción de estos citocromos (fig. 12-5) que, a su vez, son oxidados por sustratos en una serie de reacciones enzimáticas conocidas en conjunto como **ciclo de la hidroxilasa** (fig. 12-6). En el retículo endoplásmico del hígado, los citocromos P450 se encuentran junto con el **citocromo *b*$_5$**, y tienen una función importante en la destoxificación. El índice de destoxificación de muchos fármacos medicinales por citocromos P450 determina la duración de su acción. El benzpireno, la aminopirina, la anilina, morfina y benzfetamina son hidroxilados, lo que aumenta su solubilidad y ayuda a su excreción. Muchos medicamentos, como el fenobarbital, tienen la capacidad para inducir la síntesis de citocromos P450.

Los sistemas de citocromo P450 mitocondriales se encuentran en tejidos esteroidogénicos como corteza suprarrenal, testículos, ovarios y placenta, y participan en la biosíntesis de hormonas esteroides a partir del colesterol (hidroxilación en C_{22} y C_{20} en la división de la cadena lateral, y en las posiciones 11β y 18). Además, los sistemas renales que catalizan 1-α y 24-hidroxilaciones del 25-hidroxicolecalciferol en el metabolismo de la vitamina D —y colesterol 7α-hidroxilasa y esterol 27-hidroxilasa incluidas en la biosíntesis de ácidos biliares en el hígado (cap. 26)— son enzimas P450.

LA SUPERÓXIDO DISMUTASA PROTEGE A ORGANISMOS AEROBIOS CONTRA TOXICIDAD POR OXÍGENO

La transferencia de un electrón único hacia O_2 genera el **radical libre anión superóxido** ($O_2^{-\cdot}$) en potencia perjudicial, cuyos efectos destructivos se amplifican porque da lugar a reacciones en cadena de radical libre (cap. 15). La facilidad con la cual puede for-

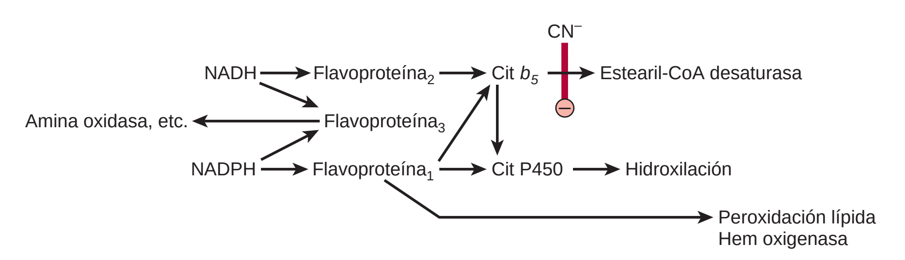


FIGURA 12-5 Cadena de transporte de electrones en el retículo endoplásmico. El cianuro (CN^-) inhibe el paso indicado.

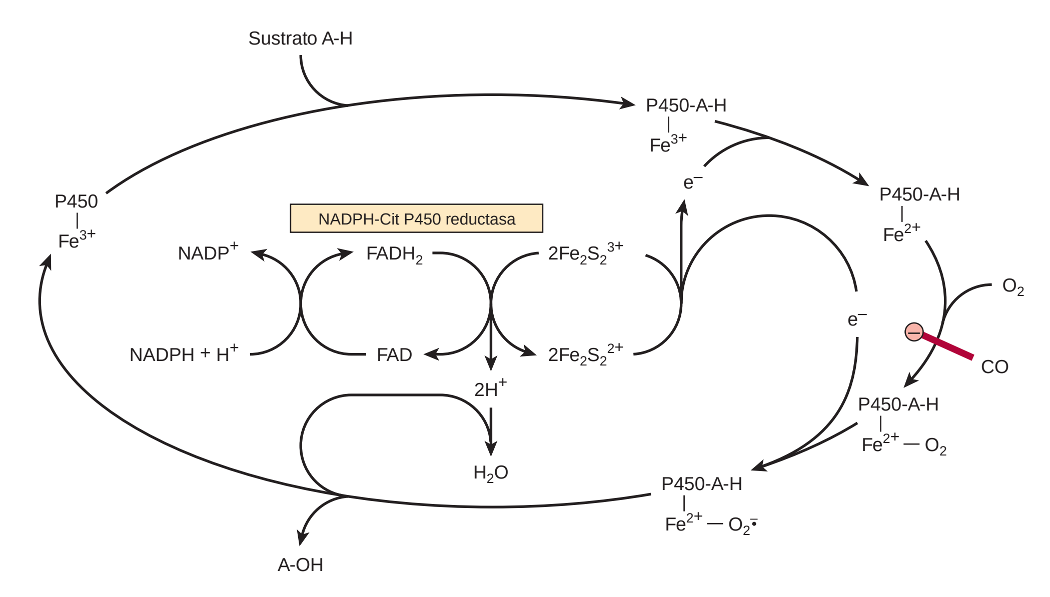


FIGURA 12-6 Ciclo de la citocromo P450 hidroxilasa. El sistema mostrado es típico de las hidroxilasas esteroides de la corteza suprarrenal. La citocromo P450 hidroxilasa microsómica hepática no necesita la proteína hierro-azufre Fe_2S_2. El monóxido de carbono (CO) inhibe el paso indicado.

marse superóxido a partir de oxígeno en los tejidos, y la aparición de **superóxido dismutasa**, la enzima que se encarga de su eliminación en todos los organismos aerobios (aunque no en los anaerobios obligados), indica que la toxicidad potencial del oxígeno se debe a su conversión en superóxido.

El superóxido se forma cuando flavinas reducidas —presentes, por ejemplo, en la xantina oxidasa— se vuelven a oxidar de manera univalente por oxígeno molecular.

$$\text{Enz} - \text{Flavina} - H_2 + O_2 \rightarrow \text{Enz} - \text{Flavina} - H + O_2^{\overline{\cdot}} + H^+$$

El superóxido puede reducir citocromo *c* oxidado

$$O_2^{\overline{\cdot}} + \text{Cit } c\ (Fe^{3+}) \rightarrow O_2 + \text{Cit } c\ (Fe^{2+})$$

o ser eliminado por la superóxido dismutasa.

En esta reacción, el superóxido actúa como oxidante y como reductor. De este modo, la superóxido dismutasa protege a los organismos aerobios contra los efectos perjudiciales potenciales del superóxido. La enzima se encuentra en todos los tejidos aerobios en las mitocondrias y el citosol. Si bien la exposición de animales a una atmósfera de oxígeno al 100% causa un incremento adaptativo de la superóxido dismutasa, sobre todo en pulmones, la exposición prolongada conduce a daño pulmonar y muerte. Los antioxidantes, por ejemplo, α-tocoferol (vitamina E), actúan como recolectores de radicales libres y reducen la toxicidad del oxígeno (cap. 44).

RESUMEN

- En sistemas biológicos, al igual que los sistemas químicos, la oxidación (pérdida de electrones) siempre se acompaña de reducción de un aceptor de electrón.
- Las oxidorreductasas tienen diversas funciones en el metabolismo; las oxidasas y las deshidrogenasas desempeñan funciones importantes en la respiración; las hidroperoxidasas protegen al cuerpo contra daño por radicales libres, y las oxigenasas median la hidroxilación de fármacos y esteroides.
- Los tejidos están protegidos contra toxicidad por oxígeno causada por el radical libre superóxido por medio de la enzima especí ca superóxido dismutasa.

REFERENCIAS

Babcock GT, Wikstrom M: Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. Nature 1992;356:301.

Coon MJ: Cytochrome P450: Nature's most versatile biological catalyst. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2005;4:1.

Harris DA: *Bioenergetics at a Glance: An Illustrated Introduction*. Blackwell Publishing, 1995.

Johnson F, Giulivi C: Superoxide dismutases and their impact upon human health. Mol Aspects Med 2005;26.

Nicholls D, Ferguson F: *Bioenergetics*. Elsevier, 2003.

Raha S, Robinson BH: Mitochondria, oxygen free radicals, disease and aging. Trends Biochem Sci 2000;25:502.

Tyler DD: *e Mitochondrion in Health and Disease*. VCH Publishers, 1992.

CAPÍTULO

13

Cadena respiratoria y fosforilación oxidativa

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos aerobios pueden captar una proporción mucho mayor de la energía libre disponible de los sustratos respiratorios que los organismos anaerobios. La mayor parte de este proceso tiene lugar dentro de las mitocondrias, que se han denominado las "centrales de energía" de la célula. La respiración está acoplada a la generación del intermediario de alta energía, ATP, por medio de **fosforilación oxidativa**. Diversos fármacos (p. ej., **amobarbital**) y venenos (p. ej., **cianuro, monóxido de carbono**) inhiben la fosforilación oxidativa, por lo general con consecuencias mortales. Se han señalado varios defectos hereditarios de las mitocondrias, que afectan componentes de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa. Los pacientes muestran **miopatía** y **encefalopatía**, y suelen tener **acidosis láctica**.

ENZIMAS ESPECÍFICAS ACTÚAN COMO MARCADORES DE COMPARTIMIENTOS SEPARADOS POR LAS MEMBRANAS MITOCONDRIALES

Las mitocondrias tienen una **membrana externa** permeable a casi todos los metabolitos, y una **membrana interna** selectivamente permeable, que encierra una **matriz** (fig. 13-1). La membrana externa se caracteriza por la presencia de diversas enzimas, entre ellas la acil-CoA sintetasa y glicerolfosfato aciltransferasa. La adenilil cinasa y la creatina cinasa se encuentran en el espacio intermembrana. El fosfolípido cardiolipina está concentrado en la membrana interna, junto con las enzimas de la cadena respiratoria, ATP sintasa y diversos transportadores de membrana.

LA CADENA RESPIRATORIA OXIDA EQUIVALENTES REDUCTORES Y ACTÚA COMO UNA BOMBA DE PROTONES

Casi toda la energía que se libera durante la oxidación de carbohidratos, ácidos grasos y aminoácidos queda disponible dentro de las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o electrones) (fig. 13-2). Note que las enzimas del ciclo del ácido cítrico y de la β-oxidación (caps. 22 y 17) están contenidas en mitocondrias, junto con la **cadena respiratoria**, que reúne y transporta equivalentes reductores, y los dirige hacia su reacción final con oxígeno para formar agua, y la maquinaria para la fosforilación oxidativa, el proceso mediante el cual la energía libre liberada se atrapa como **fosfato de alta energía**.

Los componentes de la cadena respiratoria están contenidos en cuatro complejos proteínicos grandes insertos en la membrana mitocondrial interna

Los electrones fluyen por la cadena respiratoria a través de un intervalo redox de 1.1 V desde NAD^+/NADH hacia O_2/$2H_2O$ (cuadro 12-1), y pasan por tres complejos proteínicos grandes: **NADH-Q oxidorreductasa (complejo I)**, donde se transfieren electrones desde NADH hacia la coenzima Q (Q) (también llamada **ubiquinona**); **Q-citocromo *c* oxidorreductasa (complejo III)**, que pasa los electrones hacia el citocromo *c*, y **citocromo *c* oxidasa (complejo IV)**, que completa la cadena, pasa los electrones hacia O_2 y hace que se reduzca a H_2O (fig. 13-3). Algunas sustancias con potenciales redox más positivos que NAD^+/NADH (p. ej., succinato) pasan electrones hacia Q por medio de un cuarto complejo, la **succinato-Q reductasa (complejo II)**, en lugar de mediante el complejo I. Los cuatro complejos están embebidos en la membrana mitocondrial interna, pero Q y citocromo *c* son móviles. Q se difunde con rapidez dentro de la membrana, mientras que el citocromo *c* es una proteína soluble. El flujo de electrones a través de los complejos I, III y IV da por resultado el bombeo de protones desde la matriz a través de la membrana mitocondrial interna hacia el espacio intermembrana (fig. 13-7).

Las flavoproteínas y las proteínas hierro-azufre (Fe-S) son componentes de los complejos de la cadena respiratoria

Las **flavoproteínas** (cap. 12) son componentes de importancia de los complejos I y II. El nucleótido flavina oxidado (FMN o FAD) puede reducirse en reacciones que involucran la transferencia de dos electrones (para formar $FMNH_2$ o $FADH_2$), pero también pueden aceptar un electrón para formar la semiquinona (fig. 12-2). Las **proteínas hierro-azufre (proteínas hierro no hem, Fe-S)** se encuentran en los complejos I, II y III, los cuales pueden contener uno, dos o cuatro átomos de Fe enlazados a átomos de azufre inorgánico, o por medio de grupos de cisteína-SH a la proteína, o ambos (fig. 13-4). Las Fe-S participan en reacciones de transferencia de un solo electrón en las cuales un átomo de Fe pasa por oxidorreducción entre Fe^{2+} y Fe^{3+}.

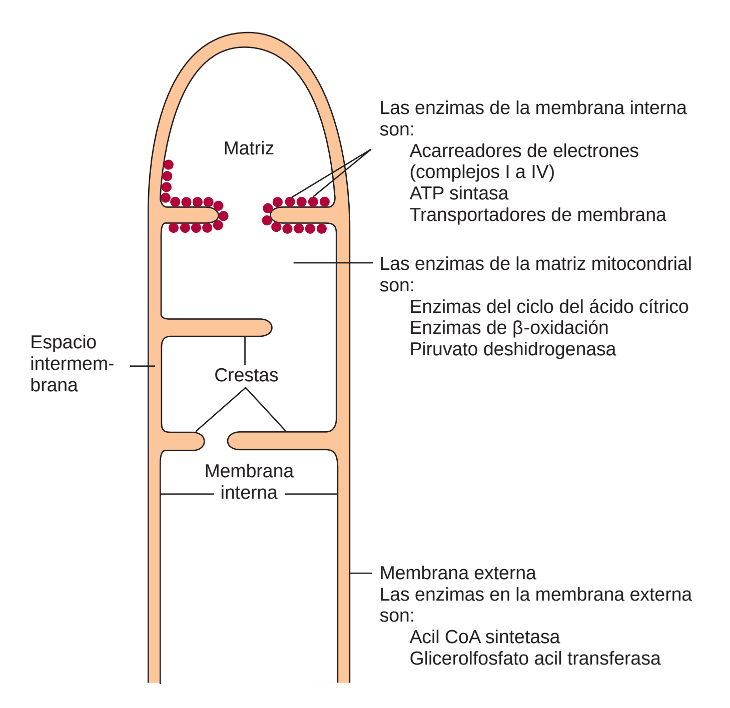


FIGURA 13-1 Estructura de las membranas mitocondriales. Note que la membrana interna contiene muchos pliegues (crestas).

Q acepta electrones mediante el complejo I y el complejo II

La NADH-Q oxidorreductasa o complejo I es una proteína grande, en forma de L, de múltiples subunidades, que cataliza la transferencia de electrones desde NADH hacia Q, junto con la transferencia de cuatro H^+ a través de la membrana:

$$NADH + Q + 5H^+_{matriz} \rightarrow NAD + QH_2 + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

En un inicio los electrones se transfieren desde NADH hacia FMN, después hacia una serie de centros Fe-S, y por último hacia Q (fig. 13-5). En el complejo II (succinato-Q reductasa), se forma $FADH_2$ durante la conversión de succinato en fumarato en el ciclo del ácido cítrico (fig. 17-3) y a continuación los electrones se pasan por medio de varios centros Fe-S hacia Q (fig. 13-5). El glicerol-3-fosfato (generado en la desintegración de triacilgliceroles o a partir de la glucólisis, fig. 18-2) y la acil-CoA también pasan electrones hacia Q mediante vías diferentes en que participan flavoproteínas (fig. 13-5).

El ciclo Q acopla la transferencia de electrones al transporte de protones en el complejo III

Los electrones se pasan desde QH_2 hacia el citocromo *c* por medio del complejo III (Q-citocromo *c* oxidorreductasa):

$$QH_2 + 2Cit\ c_{oxidado} + 2H^+_{matriz} \rightarrow Q + 2Cit\ c_{reducido} + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

Se cree que el proceso incluye **citocromos c_1, b_L y b_H**, y un **Fe-S Rieske** (un Fe-S poco común en el cual uno de los átomos de Fe está enlazado a dos grupos de histidina-SH más que a dos grupos de cisteína-SH) (fig. 13-5), y se conoce como el **ciclo Q** (fig. 13-6). Q puede existir en tres formas, la quinona oxidada, el quinol reducido o la semiquinona (fig. 13-6). Esta última se forma de modo transitorio durante el ciclo, una vuelta del cual origina la oxidación de $2QH_2$ a Q, lo que libera $4H^+$ hacia el espacio intermembrana, y la reducción de una Q a QH_2, lo que hace que $2H^+$ sean captados desde la matriz (fig. 13-6). Note que aun cuando Q acarrea dos electrones, los citocromos acarrean sólo uno; de esta manera, la oxidación de un QH_2 está acoplada a la reducción de dos moléculas de citocromo *c* mediante el ciclo Q.

El oxígeno molecular se reduce hacia agua por medio del complejo IV

El complejo IV (citocromo *c* oxidasa) oxida el citocromo *c* reducido, con la reducción concomitante de O_2 hacia dos moléculas de agua:

$$4Cit\ c_{reducido} + O_2 + 8H^+_{matriz} \rightarrow 4Cit\ c_{oxidado} + 2H_2O + 4H^+_{espacio\ intermembrana}$$

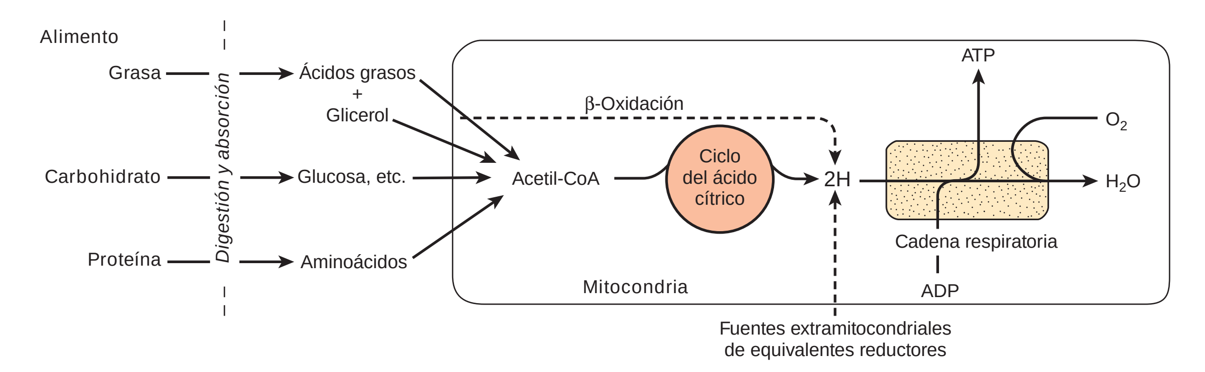


FIGURA 13-2 Participación de la cadena respiratoria de las mitocondrias en la conversión de la energía proveniente de alimentos en ATP. La oxidación de los principales alimentos conduce a la generación de equivalentes reductores (2H) que son recolectados por la cadena respiratoria para oxidación y generación acoplada de ATP.

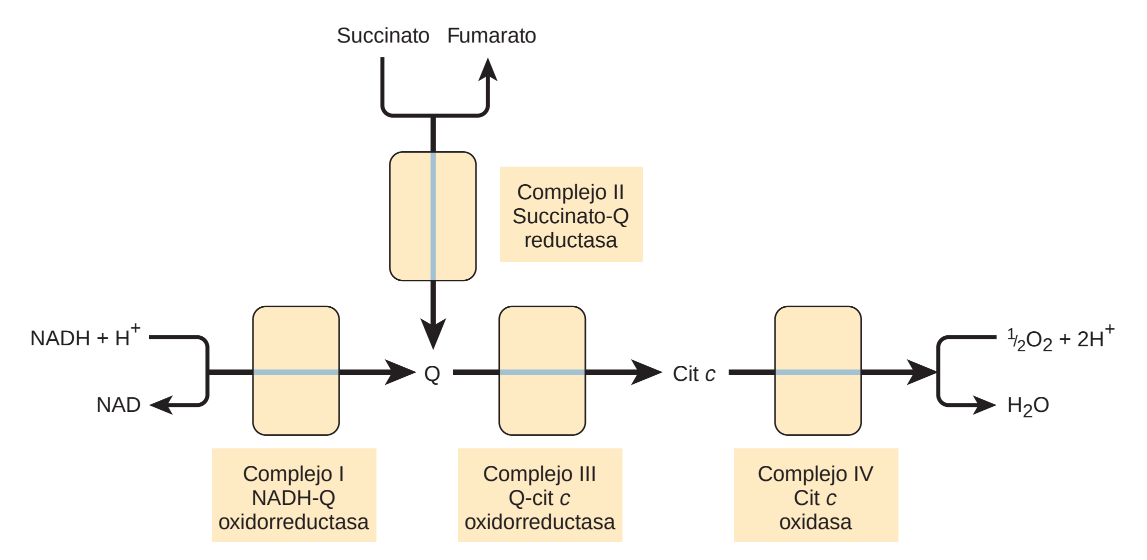


FIGURA 13-3 Perspectiva general del flujo de electrones a través de la cadena respiratoria. (Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

Esta transferencia de cuatro electrones desde el citocromo *c* hacia O_2 comprende dos grupos hem, *a* y a_3, y Cu (fig. 13-5). Los electrones se pasan inicialmente a un centro de Cu (Cu_A), que contiene átomos 2Cu enlazados a dos grupos proteína cisteína-SH (que semejan una Fe-S), luego en secuencia hacia hem *a*, hem a_3, un segundo centro de Cu, Cu_B, que está enlazado a hem a_3, y por último a O_2. De los ocho H^+ eliminados de la matriz, cuatro se usan para formar dos moléculas de agua, y cuatro se bombean hacia el espacio intermembrana. De este modo, por cada par de electrones que pasa por la cadena desde NADH o $FADH_2$, el complejo IV bombea $2H^+$ a través de la membrana. El O_2 permanece estrechamente unido al complejo IV hasta que se reduce por completo, y esto minimiza la liberación de intermediarios en potencia perjudiciales, como aniones superóxido, o peróxido, que se forman cuando el O_2 acepta uno o dos electrones, respectivamente (cap. 12).

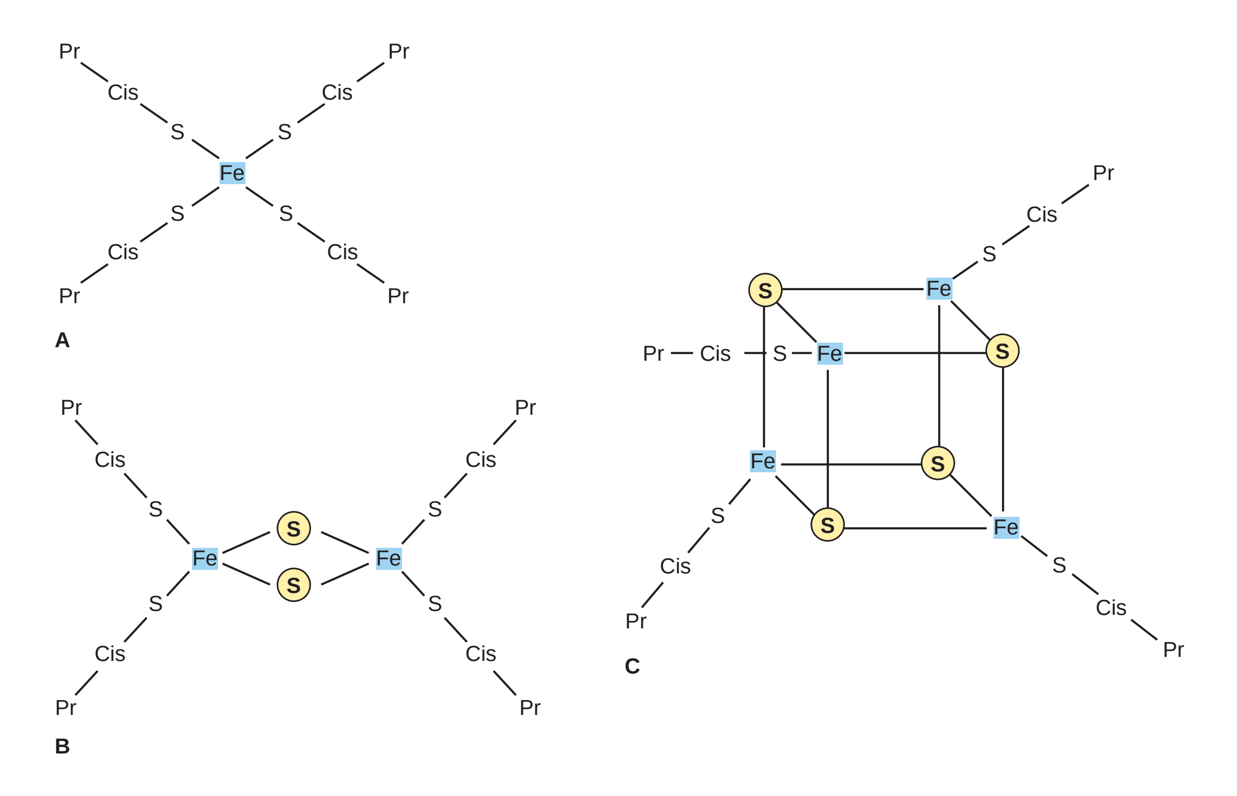


FIGURA 13-4 Proteínas hierro-azufre (Fe-S). **(A)** La Fe-S más simple con un Fe unido por cuatro cisteínas. **(B)** Centro de 2Fe-2S. **(C)** Centro de 4Fe-4S. (S , azufre inorgánico; Pr, apoproteína; Cis, cisteína.)

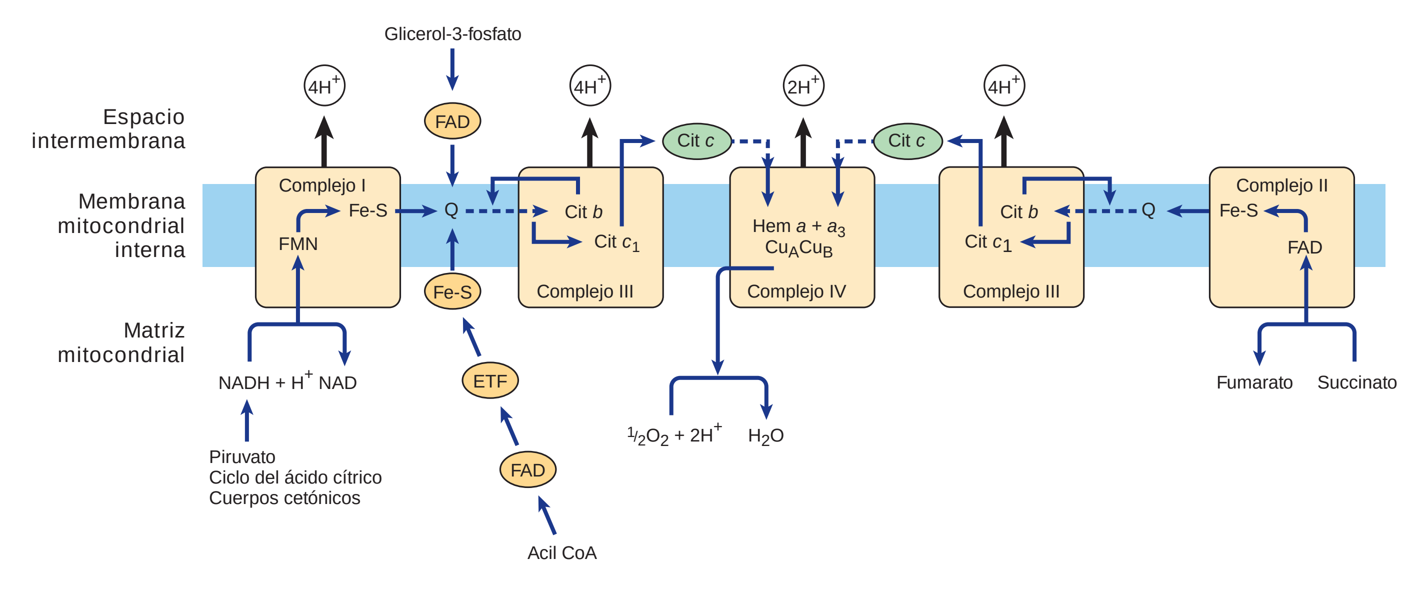


FIGURA 13-5 Flujo de electrones a través de los complejos de cadena respiratoria, que muestra los puntos de entrada de equivalentes reductores desde sustratos importantes. Q y cit son componentes móviles del sistema según se indica por las flechas punteadas. El flujo a través del complejo III (el ciclo Q) se muestra con mayor detalle en la figura 13-6. (Fe-S, proteína hierro-azufre; ETF, flavoproteína transferidora de electrón; Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

EL TRANSPORTE DE ELECTRONES MEDIANTE LA CADENA RESPIRATORIA CREA UN GRADIENTE DE PROTÓN QUE IMPULSA LA SÍNTESIS DE ATP

El flujo de electrones por la cadena respiratoria genera ATP por medio del proceso de **fosforilación oxidativa**. La **teoría quimiosmótica**, propuesta por Peter Mitchell en 1961, postula que los dos procesos están acoplados mediante un gradiente de protón a través de la membrana mitocondrial interna, de manera que la **fuerza motriz de protón** causada por la diferencia de potencial electroquímico (negativa en el lado de la matriz) impulsa el mecanismo de síntesis de ATP. Como se mencionó, los complejos I, III y IV actúan como **bombas de protones**. Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a iones en general, y en especial a protones, éstos se acumulan en el espacio intermembrana, lo que crea la fuerza motriz de protón predicha por la teoría quimiosmótica.

Una ATP sintasa ubicada en la membrana funciona como un motor rotatorio para formar ATP

La fuerza motriz de protón impulsa una **ATP sintasa** ubicada en la membrana que en presencia de P_i + ADP forma ATP. La ATP sintasa está embebida en la membrana interna, junto con los complejos de la cadena respiratoria (fig. 13-7). Varias subunidades de la proteína forman una estructura parecida a bola alrededor de un eje conocido como F_1, que se proyecta hacia la matriz y contiene el mecanismo de fosforilación (fig. 13-8). F_1 está fijo a un complejo de proteína de membrana conocido como F_0, que también consta de varias subunidades proteínicas. F_0 abarca la membrana y forma un canal de protones. El flujo de estos últimos a través de F_0 hace que rote, lo que impulsa la producción de ATP en el complejo F_1 (figs. 13-7 y 13-8). Se cree que esto ocurre por medio de un mecanismo **de cambio de unión** en el cual, a medida que el eje rota, la conformación de las subunidades β en F_1 cambia desde una que se une con firmeza al ATP hacia otra que libera ATP y se une a ADP y P_i, de modo que puede formarse el siguiente ATP. Los estimados sugieren que por cada NADH oxidado, los complejos I y III translocan cuatro protones cada uno, y el complejo IV transloca dos.

LA CADENA RESPIRATORIA PROPORCIONA LA MAYOR PARTE DE LA ENERGÍA CAPTADA DURANTE EL CATABOLISMO

El ADP capta, en forma de fosfato de alta energía, una proporción importante de la energía libre derivada de los procesos catabólicos. El ATP resultante se ha denominado la **"moneda" de energía** de la célula porque pasa esta energía libre para impulsar los procesos que requieren energía (fig. 11-6).

Hay una captación directa neta de dos grupos fosfato de alta energía en las reacciones glucolíticas (cuadro 18-1). En el ciclo del ácido cítrico se captan dos fosfatos de alta energía más por mol de glucosa durante la conversión de succinil CoA en succinato. Todas estas fosforilaciones sobrevienen en el **nivel de sustrato**. Por cada mol de sustrato oxidado mediante los complejos I, III y IV en la cadena respiratoria (es decir, por medio de NADH), se forman 2.5 mol de ATP por cada 0.5 mol de O_2 consumido; esto es, la proporción P:O = 2.5 (fig. 13-7). Por otra parte, cuando un mol de sustrato (p. ej., succinato o 3-fosfoglicerato) se oxida por medio de los complejos II, III y IV, sólo se forman 1.5 mol de ATP; es decir, P:O = 1.5. Estas reacciones se conocen como **fosforilación oxidativa en el ámbito de la cadena respiratoria**. Al tomar en cuenta estos valores, se estima que cerca de 90% de los fosfatos de alta energía producidos a partir de la oxidación completa de 1 mol de glucosa se

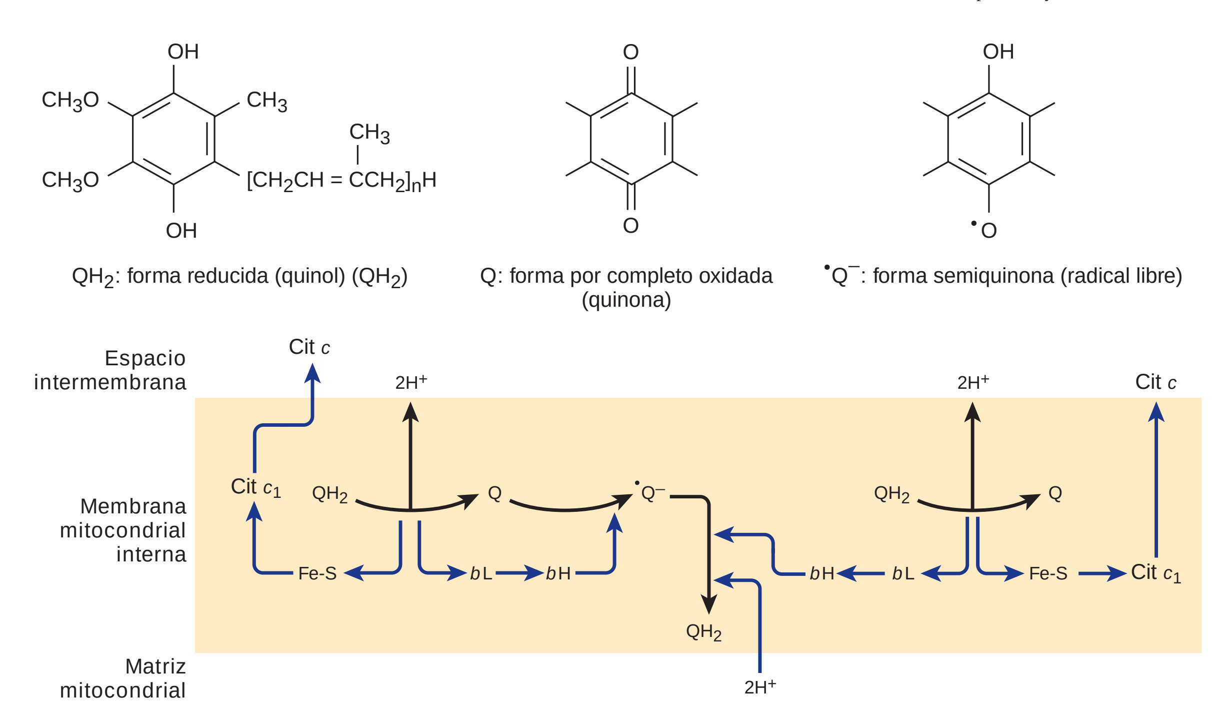


FIGURA 13-6 El ciclo Q. Durante la oxidación de QH_2 a Q, se dona un electrón a cit *c* por medio de una Fe-S de Rieske y cit c_1, y el segundo a una Q para formar la semiquinona mediante cit b_L y cit b_H, con liberación de $2H^+$ hacia el espacio intermembrana. A continuación ocurre un proceso similar con una segunda QH_2, pero en este caso el segundo electrón se dona a la semiquinona, lo que la reduce a QH_2, y $2H^+$ son captados desde la matriz. (Fe-S, proteína hierro-azufre; Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

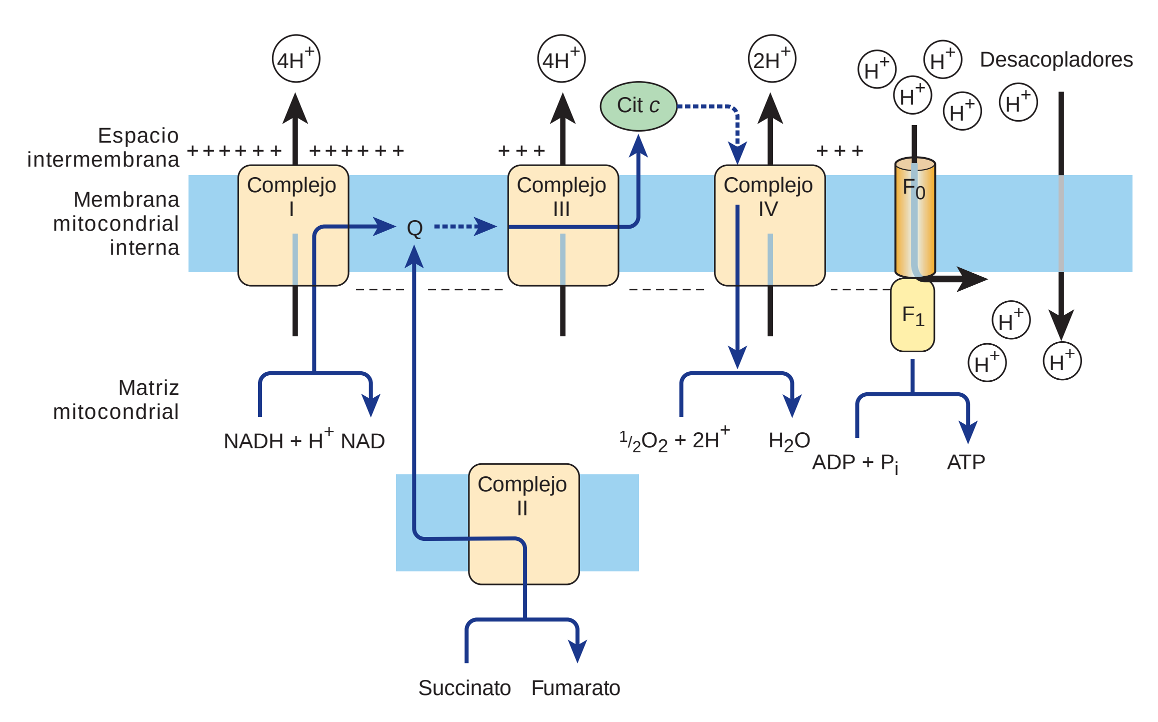


FIGURA 13-7 La teoría quimiosmótica de la fosforilación oxidativa. Los complejos II, III y IV actúan como bombas de protón, lo que crea un gradiente de protón a través de la membrana, que es negativa en el lado de la matriz. La fuerza motriz de protón generada impulsa la síntesis de ATP conforme los protones fluyen de regreso hacia la matriz por medio de la enzima ATP sintasa (fig. 13-8). Los desacopladores aumentan la permeabilidad de la membrana a iones, lo que colapsa el gradiente de protón al permitir que el H^+ pase sin atravesar la ATP sintasa y, así, desacopla el flujo de electrón a través de los complejos respiratorios, de la síntesis de ATP. (Q, coenzima Q o ubiquinona; cit, citocromo.)

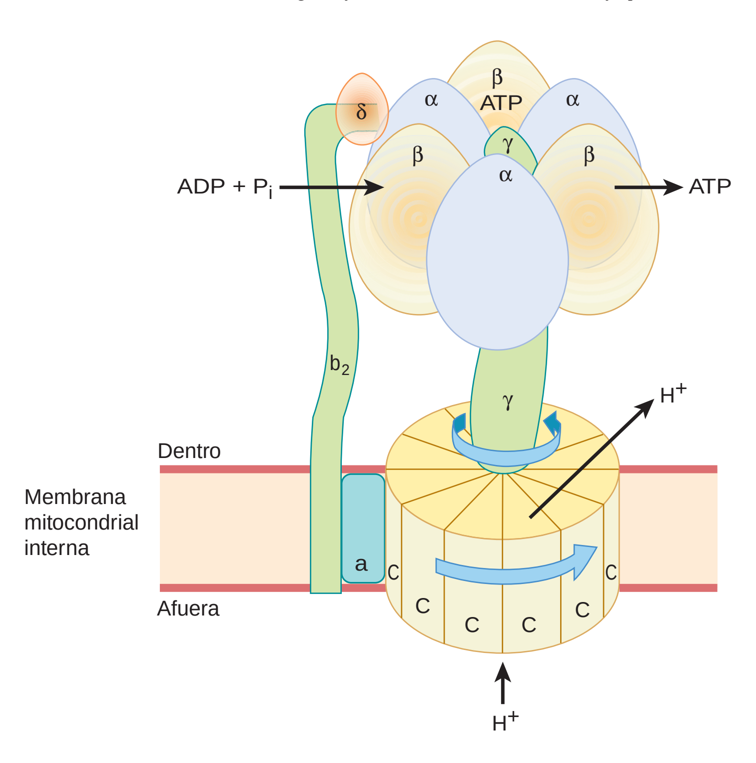


FIGURA 13-8 Mecanismo de producción de ATP por la ATP sintasa. El complejo enzimático consta de un subcomplejo F_0 que es un disco de subunidades de proteína "C". Hay una subunidad γ fija en forma de un "eje doblado". Los protones que pasan por el disco de unidades "C" hacen rotar el disco y la subunidad γ fija. La subunidad γ se adapta dentro del subcomplejo F_1 de tres subunidades α y tres subunidades β, que están fijas a la membrana y no rotan. Las subunidades β captan de manera secuencial ADP y P_i para formar ATP, que se expulsa a medida que la subunidad γ rotatoria saca cada subunidad β a la vez y cambia su conformación. De este modo, se generan tres moléculas de ATP por cada revolución. En aras de la claridad, no todas las subunidades que se han identificado se muestran; p. ej., el "eje" también contiene una subunidad.

obtiene mediante fosforilación oxidativa acoplada a la cadena respiratoria (cuadro 18-1).

El control respiratorio asegura un aporte constante de ATP

La disponibilidad de ADP puede controlar el índice de respiración de las mitocondrias, lo cual se debe a que la oxidación y fosforilación están **firmemente acopladas**; esto es, la oxidación no puede proceder por la cadena respiratoria sin fosforilación concomitante de ADP. En el cuadro 13-1 se muestran las cinco condiciones que controlan el índice de respiración en las mitocondrias. Casi todas las células en el estado en reposo se encuentran en estado 4, y la disponibilidad de ADP controla la respiración. Cuando se realiza trabajo, el ATP se convierte en ADP, lo que permite que ocurra más respiración que, a su vez, reabastece las reservas de ATP. En ciertas condiciones, la concentración de fosfato inorgánico también puede afectar el índice de funcionamiento de la cadena respiratoria. A medida que se incrementa la respiración (como durante ejercicio), la célula se aproxima al estado 3 o el estado 5 cuando la capacidad de la cadena respiratoria queda saturada o la PO_2 disminuye por debajo de la K_m para el hem a_3. También existe la posibilidad de que el transportador de ADP/ATP, que facilita la entrada de ADP citosólico a la mitocondria, y la salida de ATP desde esta última, se conviertan en el limitante de la velocidad.

De este modo, la manera en la cual los procesos oxidativos biológicos permiten que la energía libre resultante de la oxidación de alimento quede disponible para ser captada es por pasos, eficiente y controlada, en lugar de explosiva, ineficiente e incontrolada, como en muchos procesos biológicos. La energía libre restante que no se capta como fosfato de alta energía se libera como **calor**. Esto no necesita considerarse "desperdicio", porque asegura que el sistema respiratorio en conjunto sea lo bastante exergónico como para que se saque de equilibrio, lo que permite el flujo unidireccional continuo y suministro constante de ATP. También contribuye al mantenimiento de la temperatura corporal.

CUADRO 13-1 Estados de control respiratorio

	Condiciones que limitan el índice de respiración
Estado 1	Disponibilidad de ADP y sustrato
Estado 2	Disponibilidad sólo de sustrato
Estado 3	La capacidad de la cadena respiratoria en sí, cuando todos los sustratos y los componentes están presentes en cantidades que originan saturación
Estado 4	Disponibilidad de sólo ADP
Estado 5	Disponibilidad de únicamente oxígeno

MUCHOS VENENOS INHIBEN LA CADENA RESPIRATORIA

Gran parte de la información acerca de la cadena respiratoria se ha obtenido por medio del uso de inhibidores y, a la inversa, esto ha proporcionado conocimiento respecto del mecanismo de acción de varios venenos (fig. 13-9), mismos que se clasifican como inhibidores de la cadena respiratoria, inhibidores de la fosforilación oxidativa y desacopladores de esta última.

Los **barbitúricos**, como el amobarbital, inhiben el transporte de electrones mediante el complejo I al bloquear la transferencia desde Fe-S hacia Q. En dosificación suficiente, son mortales *in vivo*. La **antimicina A** y el **dimercaprol** inhiben la cadena respiratoria en

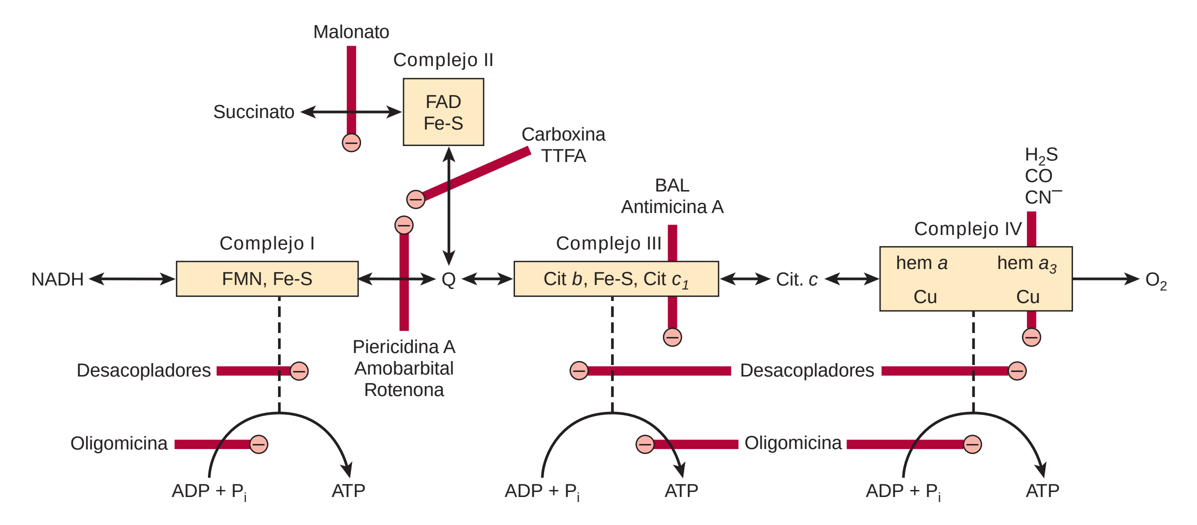


FIGURA 13-9 Sitios de inhibición (●) de la cadena respiratoria por fármacos, sustancias químicas y antibióticos específicos. (BAL, dimercaprol; TTFA, un agente quelante de Fe. Las otras abreviaturas significan lo mismo que las de la figura 13-5.)

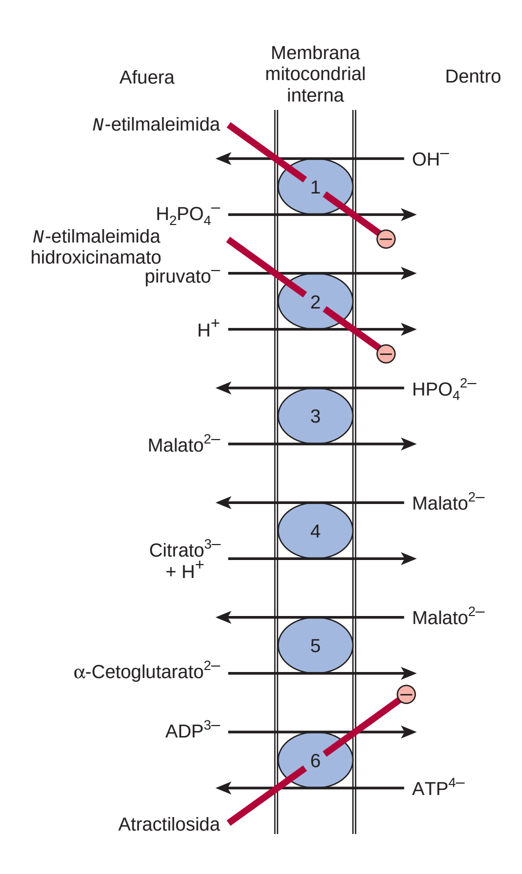


FIGURA 13-10 Sistemas de transporte de la membrana mitocondrial interna. ① Transportador de fosfato, ② simporte piruvato, ③ transportador de dicarboxilato, ④ transportador de tricarboxilato, ⑤ transportador de α-cetoglutarato, ⑥ transportador de nucleótido adenina. La *N*-etilmaleimida, hidroxicinamato y atractilosida inhiben (●) los sistemas indicados. También hay sistemas transportadores para glutamato/aspartato (pero no se muestran aquí) (fig. 13-13), glutamina, ornitina, aminoácidos neutros y carnitina (fig. 22-1).

el complejo III. Los venenos clásicos $\mathbf{H_2S}$, **monóxido de carbono** y **cianuro** inhiben el complejo IV y, en consecuencia, pueden suspender por completo la respiración. El **malonato** es un inhibidor competitivo del complejo II.

El **atractilósido** inhibe la fosforilación oxidativa mediante la inhibición del transportador de ADP hacia dentro de la mitocondria, y de ATP hacia afuera de ella (fig. 13-10). El antibiótico **oligomicina** bloquea por completo la oxidación y fosforilación al bloquear el flujo de protones por medio de la ATP sintasa (fig. 13-9).

Los **desacopladores** disocian la oxidación en la cadena respiratoria, de la fosforilación (fig. 13-7). Estos compuestos son tóxicos *in vivo*, lo que hace que la respiración se torne incontrolada, puesto que el índice ya no queda limitado por la concentración de ADP o P_i. El desacoplador que se ha usado con mayor frecuencia es el **2,4-dinitrofenol**, pero otros compuestos actúan de manera similar. La **termogenina** (**o la proteína desacopladora**) es un desacoplador fisiológico que se encuentra en el tejido adiposo pardo que funciona para generar calor corporal, en particular para el recién nacido y durante la hibernación en animales (cap. 25).

LA TEORÍA QUIMIOSMÓTICA PUEDE EXPLICAR EL CONTROL RESPIRATORIO Y LA ACCIÓN DE DESACOPLADORES

La diferencia de potencial electroquímico a través de la membrana, una vez establecida como resultado de translocación de protón, inhibe el transporte adicional de equivalentes reductores por la cadena respiratoria, a menos que se descargue por translocación retrógrada de protones a través de la membrana mediante la ATP sintasa. Esto, a su vez, depende de la disponibilidad de ADP y P_i.

Los desacopladores (p. ej., dinitrofenol) son anfipáticos (cap. 15) y aumentan la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna lipoide a protones, lo que reduce el potencial electroquímico y suscita cortocircuito de la ATP sintasa (fig. 13-7). De este modo, la oxidación puede proceder sin fosforilación.

LA IMPERMEABILIDAD RELATIVA DE LA MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERNA REQUIERE TRANSPORTADORES DE INTERCAMBIO

Sistemas de difusión de intercambio que incluyen proteínas transportadoras que abarcan la membrana están presentes en la misma para intercambio de aniones contra iones OH^- y cationes contra iones H^+. Esos sistemas se necesitan para captación y salida de metabolitos ionizados, mientras que preservan los equilibrios eléctrico y osmótico. La membrana mitocondrial interna es libremente permeable a moléculas pequeñas no cargadas, como oxígeno, agua, CO_2, NH_3 y ácidos monocarboxílicos, como 3-hidroxibutírico, acetoacético y acético. Los ácidos grasos de cadena larga se transportan hacia las mitocondrias por medio del sistema de carnitina (fig. 22-1), y hay también un acarreador especial para el piruvato que comprende un simporte que utiliza el gradiente de H^+ desde afuera hacia dentro de la mitocondria (fig. 13-10). Sin embargo, los aniones dicarboxilato y tricarboxilato y los aminoácidos requieren sistemas transportadores o acarreadores específicos para facilitar su paso a través de la membrana. Los ácidos monocarboxílicos penetran con mayor facilidad en su forma no disociada y más liposoluble.

El transporte de aniones dicarboxilato y tricarboxilato está estrechamente enlazado con el de fosfato inorgánico, que penetra con facilidad como el ion $H_2PO_4^-$ en intercambio por OH^-. La captación neta de malato por el transportador dicarboxilato necesita fosfato inorgánico para intercambio en la dirección opuesta. La captación neta de citrato, isocitrato o *cis*-aconitato por el transportador tricarboxilato requiere malato a cambio. El transporte de α-cetoglutarato también exige un intercambio con malato. El transportador de nucleótido adenina permite el intercambio de ATP y ADP, no así de AMP. Es vital para permitir que el ATP salga de las mitocondrias hacia los sitios de utilización extramitocondrial y que ocurra el regreso de ADP para la producción de ATP dentro de la mitocondria (fig. 13-11). Dado que en esta translocación se eliminan de la matriz cuatro cargas negativas por cada tres introducidas, el gradiente electroquímico a través de la membrana (la fuerza motriz de protón) favorece la exportación de ATP. El Na^+ puede intercambiarse por H^+, impulsado por el gradiente de protón. Se cree que la captación activa de Ca^{2+} por mitocondrias ocurre con una transferencia de carga neta de 1 (uniporte de Ca^+), posiblemente por medio de un antiporte Ca^{2+}/H^+. La liberación de calcio a partir de las mitocondrias se facilita por intercambio con Na^+.

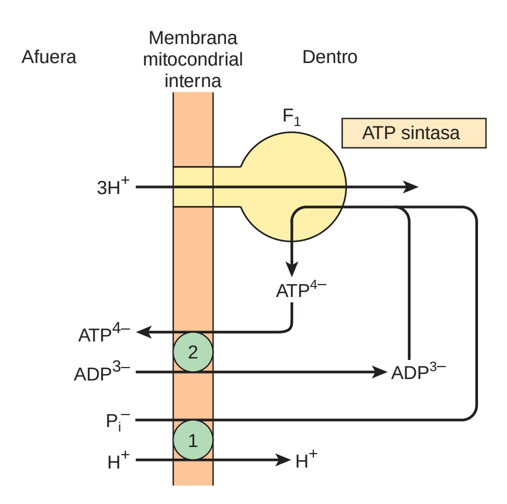


FIGURA 13-11 Combinación de transportador de fosfato ● con el transportador de nucleótido adenina ● en la síntesis de ATP. El simporte H^+/P_i mostrado es equivalente al antiporte P_i/OH^- mostrado en la figura 13-10.

Los ionóforos permiten que cationes específicos penetren en las membranas

Los **ionóforos** son moléculas lipofílicas que forman complejos con cationes específicos y facilitan su transporte a través de membranas biológicas, por ejemplo, **valinomicina** (K^+). En realidad, los desacopladores clásicos como el dinitrofenol, son ionóforos de protón.

Una transhidrogenasa translocadora de protón es una fuente de NADPH intramitocondrial

La **transhidrogenasa enlazada con energía**, una proteína de la membrana mitocondrial interna, acopla el paso de protones por el gradiente electroquímico desde afuera hacia dentro de la mitocondria, con la transferencia de H desde NADH intramitocondrial ha-

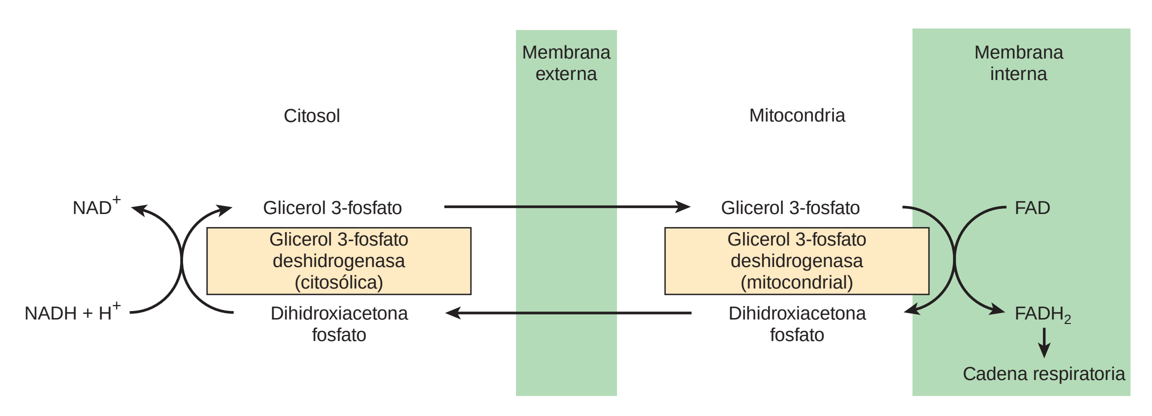


FIGURA 13-12 Transbordador de glicerofosfato para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria.

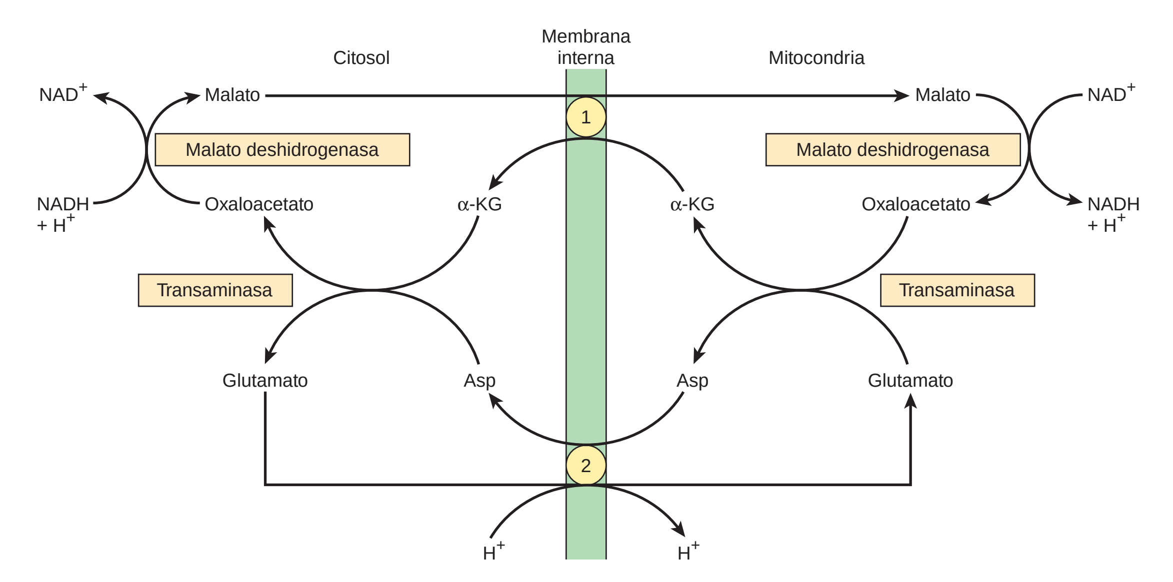


FIGURA 13-13 Transbordador de malato para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria. ① transportador de alfa-cetoglutarato, ② transportador de glutamato/aspartato (note el simporte protón con glutamato).

cia NADPH para enzimas intramitocondriales como glutamato deshidrogenasa e hidroxilasas incluidas en la síntesis de esteroide.

La oxidación de NADH extramitocondrial está mediada por transbordadores de sustrato

El NADH no puede penetrar en la membrana mitocondrial, sino que se produce de manera continua en el citosol por la 3-fosfogliceraldehído deshidrogenasa, una enzima en la secuencia de glucólisis (fig. 18-2). Empero, en condiciones aeróbicas, el NADH extramitocondrial no se acumula, y se cree que la cadena respiratoria lo oxida en las mitocondrias. La transferencia de equivalentes reductores a través de la membrana mitocondrial requiere pares de sustrato, enlazados por deshidrogenasas idóneas a cada lado de la membrana mitocondrial. En la figura 13-12 se muestra el mecanismo de transferencia usando el **transbordador de glicerofosfato**. Puesto que la enzima mitocondrial está enlazada a la cadena respiratoria por medio de una flavoproteína más que por NAD, por cada átomo de oxígeno consumido sólo se forman 1.5 mol de ATP en lugar de 2.5. Si bien este transbordador está presente en algunos tejidos (p. ej., cerebro, músculo blanco), en otros (p. ej., músculo cardiaco) es deficiente. Por ende, se cree que el sistema del **transbordador malato** (fig. 13-13) es de utilidad más universal. La complejidad de este sistema se debe a la impermeabilidad de la membrana mitocondrial al oxaloacetato, que debe reaccionar con el glutamato para formar aspartato y α-cetoglutarato mediante transaminación antes de transporte a través de la membrana mitocondrial y reconstitución hacia oxaloacetato en el citosol.

El transporte de ion en las mitocondrias está enlazado con energía

Las mitocondrias mantienen o acumulan cationes como K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} y P_i. Se supone que una bomba de protón primaria impulsa el intercambio de catión.

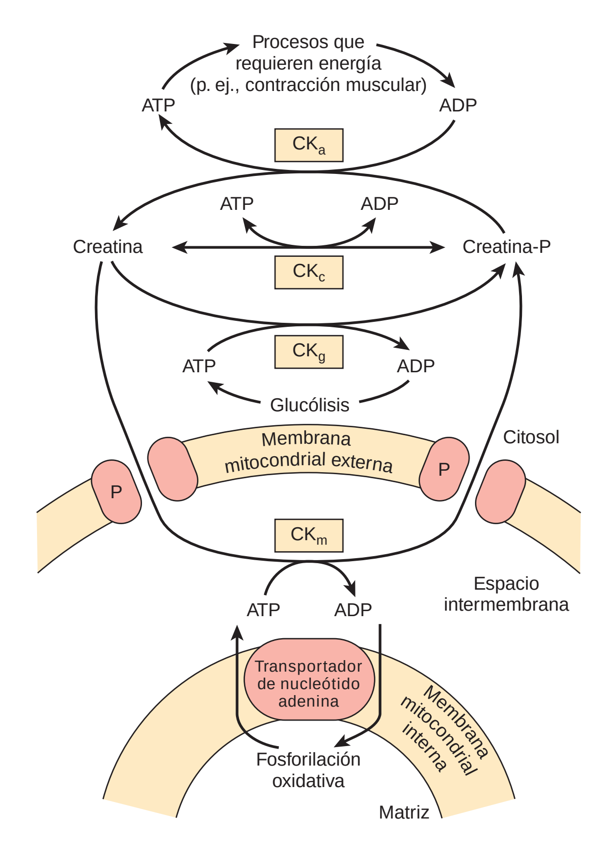


FIGURA 13-14 El transbordador de creatina fosfato del corazón y el músculo estriado. El transbordador permite el transporte rápido de fosfato de alta energía desde la matriz mitocondrial hacia el citosol. (CK_a, creatina cinasa relacionada con requerimientos grandes de ATP, p. ej., contracción muscular; CK_c, creatina cinasa para mantener el equilibrio entre creatina y creatina fosfato y ATP/ADP; CK_g, creatina cinasa que acopla la glucólisis con la síntesis de creatina fosfato; CK_m, creatina cinasa mitocondrial que media la producción de creatina fosfato a partir de ATP formado en la fosforilación oxidativa; P, proteína poro en la membrana mitocondrial externa.)

El transbordador de creatina fosfato facilita el transporte de fosfato de alta energía desde mitocondrias

Este transbordador (fig. 13-14) incrementa las funciones de la **creatina fosfato** como un amortiguador de energía al actuar como un sistema dinámico para la transferencia de fosfato de alta energía desde mitocondrias en tejidos activos como el corazón y el músculo estriado. Una isoenzima de la **creatina cinasa** (CK_m) se encuentra en el espacio intermembrana mitocondrial, catalizando la transferencia de fosfato de alta energía hacia creatina desde ATP que surge a partir del transportador de nucleótido adenina. A su vez, la creatina fosfato se transporta hacia el citosol por medio de poros de proteína en la membrana mitocondrial externa, y queda disponible para la generación de ATP extramitocondrial.

ASPECTOS CLÍNICOS

La enfermedad conocida como **miopatía mitocondrial mortal infantil con disfunción renal** comprende disminución grave o falta de casi todas las oxidorreductasas de la cadena respiratoria. En el síndrome **MELAS** (del inglés *mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis and stroke*, mitencefalopatía, acidosis láctica y apoplejía mitocondriales) es una enfermedad hereditaria debida a deficiencia de NADH-Q oxidorreductasa (complejo I) o citocromo oxidasa (complejo IV). Se produce por una mutación del DNA mitocondrial, y se cree que está involucrada en la **enfermedad de Alzheimer** y la **diabetes mellitus**. Diversos fármacos y venenos actúan por inhibición de la fosforilación oxidativa.

RESUMEN

- Casi toda la energía liberada a partir de la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas se pone a disposición en las mitocondrias como equivalentes reductores (—H o e^-), los cuales se encauzan hacia la cadena respiratoria, donde pasan por un gradiente redox de acarreadores hacia su reacción nal con oxígeno para formar agua.
- Los acarreadores redox están agrupados en cuatro complejos de cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna. Tres de los cuatro complejos tienen la capacidad para usar la energía liberada en el gradiente redox para bombear protones hacia el exterior de la membrana, lo que crea un potencial electroquímico entre la matriz y el espacio de la membrana interna.
- La ATP sintasa abarca la membrana y actúa como un motor rotatorio usando la energía potencial del gradiente de protón o fuerza motriz de protón para sintetizar ATP a partir de ADP y P_i. De este modo, la oxidación está estrechamente acoplada a la fosforilación para satisfacer las necesidades de energía de las células.
- Dado que la membrana mitocondrial interna es impermeable a protones y otros iones, los transportadores de intercambio especiales abarcan la membrana para permitir que iones como OH^-, ATP^{4-}, ADP^{3-} y metabolitos, pasen sin descargar el gradiente electroquímico a través de la membrana.
- Muchos venenos bien conocidos, como el cianuro, suspenden la respiración mediante inhibición de la cadena respiratoria.

REFERENCIAS

Hinkle PC et al: P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Biochem Biophys Acta 2005;1706:1.

Mitchell P: Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. Science 1979;206:1148.

Schultz BE, Chan SI: Structures and proton-pumping strategies of mitochondrial respiratory enzymes. Annu Rev Biophys Biomol Struct 2001;30:23.

Smeitink J et al: e genetics and pathology of oxidative phosphorylation. Nat Rev Genet 2001;2:342.

Tyler DD: *e Mitochondrion in Health and Disease*. VCH Publishers, 1992.

Wallace DC: Mitochondrial DNA in aging and disease. Sci Am 1997;277:22.

Yoshida M et al: ATP synthase—a marvellous rotary engine of the cell. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:669.

C A P Í T U L O

14

Carbohidratos importantes desde el punto de vista fisiológico

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los carbohidratos están ampliamente distribuidos en vegetales y animales; tienen importantes funciones estructurales y metabólicas. En los vegetales, la glucosa se sintetiza a partir de dióxido de carbono y agua por medio de fotosíntesis, y es almacenada como almidón o usada para sintetizar la celulosa de las paredes de las células vegetales. Los animales pueden sintetizar carbohidratos a partir de aminoácidos, pero casi todos se derivan finalmente de vegetales. La **glucosa** es el carbohidrato más importante; casi todo el carbohidrato de la dieta se absorbe hacia el torrente sanguíneo como glucosa formada mediante hidrólisis del almidón y los disacáridos de la dieta, y otros azúcares se convierten en glucosa en el hígado. La glucosa es el principal combustible metabólico de mamíferos (excepto de los rumiantes), y un combustible universal del feto. Es el precursor para la síntesis de todos los otros carbohidratos en el cuerpo, incluso **glucógeno** para almacenamiento; **ribosa** y **desoxirribosa** en ácidos nucleicos; **galactosa** en la lactosa de la leche, en glucolípidos, y en combinación con proteína en glucoproteínas y proteoglucanos. Las enfermedades relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos son **diabetes mellitus, galactosemia, enfermedades por depósito de glucógeno** e **intolerancia a la lactosa**.

LOS CARBOHIDRATOS SON DERIVADOS ALDEHÍDO O CETONA DE ALCOHOLES POLIHÍDRICOS

Los carbohidratos se clasifican como sigue:

1. Los **monosacáridos** son los azúcares que no se pueden hidrolizar hacia carbohidratos más simples. Pueden clasificarse como **triosas**, **tetrosas**, **pentosas**, **hexosas** o **heptosas**, dependiendo del número de átomos de carbono, y como **aldosas** o **cetosas**, dependiendo de si tienen un grupo aldehído o cetona. En el cuadro 14-1 se listan ejemplos. Además de aldehídos y cetonas, los alcoholes polihídricos (alcoholes azúcar o **polioles**), en los cuales el grupo aldehído o cetona se ha reducido a un grupo alcohol, también se encuentran de modo natural en los alimentos. Son sintetizados por medio de reducción de monosacáridos para uso en la manufactura de alimentos para reducción de peso, y para diabéticos. Se absorben poco y tienen alrededor de la mitad del rendimiento de energía de los azúcares.

2. Los **disacáridos** son productos de condensación de dos unidades de monosacárido; los ejemplos son maltosa y sacarosa.

3. Los **oligosacáridos** son productos de condensación de 3 a 10 monosacáridos. Casi ninguno es digerido por las enzimas del ser humano.

4. Los **polisacáridos** son productos de condensación de más de 10 unidades de monosacáridos; los ejemplos son los almidones y las dextrinas, que pueden ser polímeros lineales o ramificados. Los polisacáridos a veces se clasifican como hexosanos o pentosanos, dependiendo de la identidad de los monosacáridos que los constituyen (hexosas y pentosas, respectivamente). Además de almidones y dextrinas, los alimentos contienen una amplia variedad de otros polisacáridos que se conocen en conjunto como polisacáridos no almidón; las enzimas del ser humano no los digieren, y son el principal componente de la fibra en la dieta. Los ejemplos son celulosa (un polímero de glucosa) de paredes de células vegetales, e inulina (un polímero de fructosa), el carbohidrato de almacenamiento en algunos vegetales.

DESDE EL PUNTO DE VISTA BIOMÉDICO, LA GLUCOSA ES EL MONOSACÁRIDO DE MAYOR IMPORTANCIA

La estructura de la glucosa puede representarse de tres maneras

La fórmula estructural de cadena recta (aldohexosa; fig. 14-1A) puede explicar algunas de las propiedades de la glucosa, pero una estructura cíclica (un **hemiacetal** formado por reacción entre el grupo aldehído y un grupo hidroxilo) es favorecida en el aspecto termodinámico, y explica otras propiedades. La estructura cíclica normalmente se dibuja como se muestra en la figura 14-1B, la proyección de Haworth, en la cual la molécula se ve desde el lado y por arriba del plano del anillo; los enlaces más cercanos al observador son marcados y engrosados, y los grupos hidroxilo están por arriba o por debajo del plano del anillo. El anillo de seis miembros que contiene un átomo de oxígeno en realidad tiene la forma de una silla (fig. 14-1C).

Los azúcares muestran diversas formas de isomerismo

La glucosa, con cuatro átomos de carbono asimétricos, puede formar 16 isómeros. Los tipos de isomerismo de mayor importancia encontrados con la glucosa son:

CUADRO 14-1 Clasificación de azúcares importantes

	Aldosas	Cetosas
Triosas ($C_3H_6O_3$)	Glicerosa (gliceraldehído)	Dihidroxiacetona
Tetrosas ($C_4H_8O_4$)	Eritrosa	Eritrulosa
Pentosas ($C_5H_{10}O_5$)	Ribosa	Ribulosa
Hexosas ($C_6H_{12}O_6$)	Glucosa	Fructosa
Heptosas ($C_7H_{14}O_7$)	—	Sedoheptulosa

1. Isomerismo d y l: la designación de un isómero de azúcar como la forma d o su imagen en espejo como la forma l está determinada por su relación espacial con el compuesto original de los carbohidratos, el azúcar de tres carbonos glicerosa (gliceraldehído). En la figura 14-2 se muestran las formas l y d de este azúcar, y de la glucosa. La orientación de los grupos —H y —OH alrededor del átomo de carbono adyacente al carbono alcohol primario terminal (carbón 5 en la glucosa) determina si el azúcar pertenece a las series d o l. Cuando el grupo —OH en dicho carbono está a la derecha (fig. 14-2), el azúcar es el isómero d; cuando está a la izquierda, es el isómero l. Casi todos los monosacáridos que se encuentran en mamíferos son azúcares d, y las enzimas de las cuales depende su metabolismo son específicas para esta configuración.

La presencia de átomos de carbono asimétricos también confiere **actividad óptica** al compuesto. Cuando un haz de luz polarizada por plano se hace pasar a través de una solución de un **isómero óptico**, rota hacia la derecha (es dextrorrotatorio [+]), o hacia la izquierda (es levorrotatorio [–]). La dirección de rotación de luz polarizada es independiente de la estereoquímica del azúcar, de modo que puede designarse d(–), d(+), l(–) o l(+). Por ejemplo, la forma de fructosa que existe de manera natural es el isómero d(–). En solución, la glucosa es dextrorrotatoria, y las soluciones de glucosa a veces se conocen como **dextrosa**.

2. Estructuras en anillo piranosa y furanosa: las estructuras en anillo de monosacáridos son similares a las estructuras en anillo de pirano (un anillo de seis miembros) o furano (un anillo de cinco miembros) (figs. 14-3 y 14-4). Para la glucosa en solución, más de 99% está en la forma de piranosa.

3. Anómeros α y β: la estructura en anillo de una aldosa es hemiacetal, porque se forma por combinación de un grupo aldehído y un alcohol. De modo similar, la estructura en anillo de una cetosa es un hemicetal. La glucosa cristalina es α-d-glucopiranosa. La estructura cíclica se retiene en solución, pero ocurre isomerismo alrededor de la posición 1, el carbonilo o **átomo de carbono anomé-**

L-Glicerosa (L-gliceraldehído) **D-Glicerosa (D-gliceraldehído)**

L-Glucosa **D-Glucosa**

FIGURA 14-2 D- y L-isomerismo de glicerosa y glucosa.

A **B** **C**

FIGURA 14-1 D-glucosa. **(A)** Forma de cadena recta. **(B)** α-D-glucosa; proyección de Haworth. **(C)** α-D-glucosa; forma de silla.

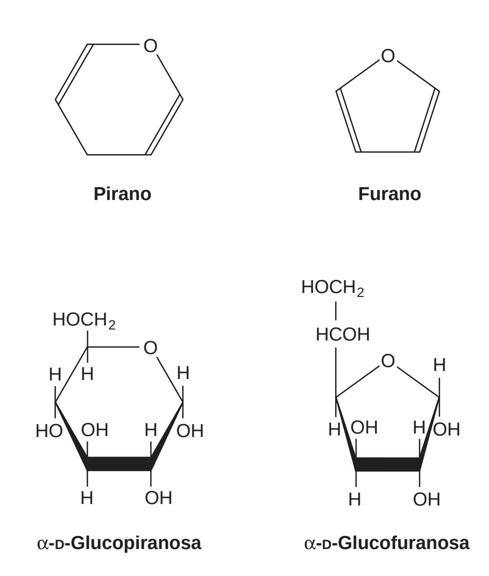


FIGURA 14-3 Formas piranosa y furanosa de la glucosa.

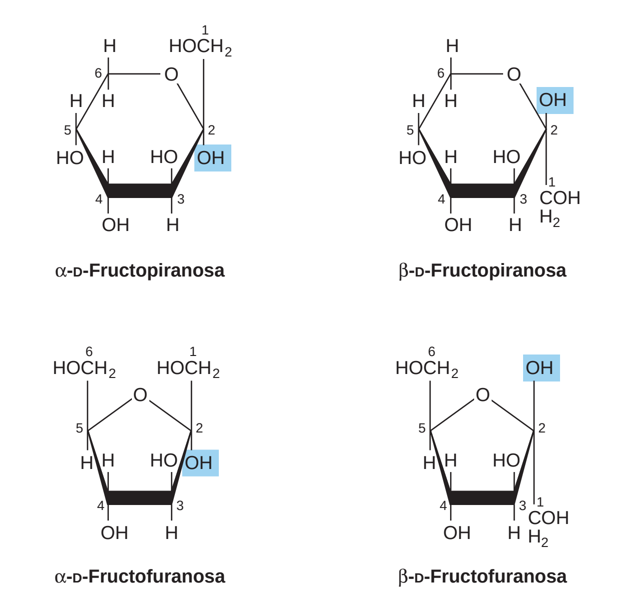


FIGURA 14-4 Formas piranosa y furanosa de la fructosa.

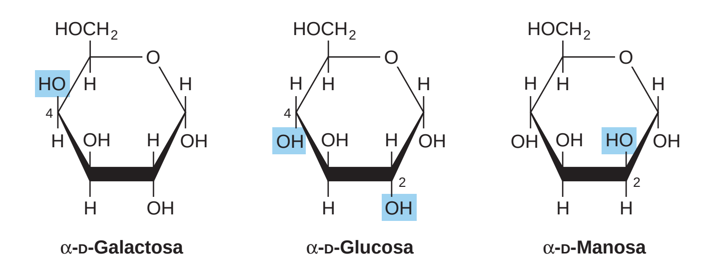


FIGURA 14-5 Epímeros de la glucosa.

rico, para dar una mezcla de α-glucopiranosa (38%) y β-glucopiranosa (62%). Menos de 0.3% está representado por anómeros α y β de glucofuranosa.

4. Epímeros: los isómeros que difieren como resultado de variaciones de configuración del —OH y —H en los átomos de carbono 2, 3 y 4 de la glucosa, se conocen como epímeros. Desde el punto de vista biológico, los epímeros de mayor importancia de la glucosa son manosa (epimerizada en el carbono 2) y galactosa (epimerizada en el carbono 4) (fig. 14-5).

5. Isomerismo de aldosa-cetosa: la fructosa tiene la misma fórmula molecular que la glucosa, pero difieren en su fórmula estructural, porque hay un grupo ceto potencial en la posición 2, el carbono anomérico de la fructosa (figs. 14-4 y 14-6), mientras que hay un grupo aldehído potencial en la posición 1, el carbono anomérico de la glucosa (figs. 14-2 y 14-7).

Muchos monosacáridos son importantes en el aspecto fisiológico

Los derivados de triosas, tetrosas y pentosas, y de un azúcar de siete carbonos (sedoheptulosa) se forman como intermediarios metabólicos en la glucólisis (cap. 18) y la vía de la pentosa fosfato (cap. 21). Las pentosas son importantes en nucleótidos, ácidos nucleicos y varias coenzimas (cuadro 14-2). La glucosa, galactosa, fructosa y manosa son las hexosas de mayor importancia fisiológica (cuadro 14-3). Las cetosas importantes desde el punto de vista bioquímico se muestran en la figura 14-6, y las aldosas, en la figura 14-7.

Además, los derivados de la glucosa del ácido carboxílico, son importantes, entre ellos el d-glucuronato (para la formación de glucurónido y en glucosaminoglucanos) y su derivado metabólico, l-iduronato (en glucosaminoglucanos) (fig. 14-8) y l-gulonato (un intermediario de la vía del ácido urónico; fig. 21-4).

D-Glicerosa (D-gliceraldehído): CHO; H—C—OH; CH_2OH
D-Eritrosa: CHO; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Lixosa: CHO; HO—C—H; HO—C—H; H—C—OH; CH_2OH
D-Xilosa: CHO; H—C—OH; HO—C—H; H—C—OH; CH_2OH
D-Arabinosa: CHO; HO—C—H; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Ribosa: CHO; H—C—OH; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Galactosa: CHO; H—C—OH; HO—C—H; HO—C—H; H—C—OH; CH_2OH
D-Manosa: CHO; HO—C—H; HO—C—H; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Glucosa: CHO; H—C—OH; HO—C—H; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH

FIGURA 14-6 Ejemplos de aldosas de importancia fisiológica.

Dihidroxiacetona: CH_2OH; C=O; CH_2OH
D-Xilulosa: CH_2OH; C=O; HO—C—H; H—C—OH; CH_2OH
D-Ribulosa: CH_2OH; C=O; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Fructosa: CH_2OH; C=O; HO—C—H; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH
D-Sedoheptulosa: CH_2OH; C=O; HO—C—H; H—C—OH; H—C—OH; H—C—OH; CH_2OH

FIGURA 14-7 Ejemplos de cetosas de importancia fisiológica.

CUADRO 14-2 Pentosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica y clínica
D-Ribosa	Ácidos nucleicos e intermediario metabólico	Componente estructural de ácidos nucleicos y coenzimas, entre ellos ATP, NAD(P) y coenzimas flavina
D-Ribulosa	Intermediario metabólico	Intermediario en la vía de la pentosa fosfato
D-Arabinosa	Gomas vegetales	Constituyente de glucoproteínas
D-Xilosa	Gomas vegetales, proteoglucanos, glucosaminoglucanos	Constituyente de glucoproteínas
L-Xilulosa	Intermediario metabólico	Se excreta en la orina en la pentosuria esencial

CUADRO 14-3 Hexosas de importancia fisiológica

Azúcar	Fuente	Importancia bioquímica	Importancia clínica
D-Glucosa	Jugos de frutas, hidrólisis del almidón, azúcar de caña o de remolacha (betabel), maltosa y lactosa	El principal combustible metabólico para tejidos; "azúcar en sangre"	Se excreta en la orina (glucosuria) en la diabetes mellitus mal controlada como resultado de hiperglucemia
D-Fructosa	Jugos de frutas; miel; hidrólisis de azúcar de caña o de remolacha, y de inulina; isomerización enzimática de jarabes de glucosa para la manufactura de alimentos	Se metaboliza con facilidad por medio de glucosa o de modo directo	La intolerancia hereditaria a la fructosa conduce a acumulación de fructosa e hipoglucemia
D-Galactosa	Hidrólisis de lactosa	Se metaboliza con facilidad hacia glucosa; se sintetiza en la glándula mamaria para síntesis de lactosa en la leche. Un constituyente de glucolípidos y glucoproteínas	La galactosemia hereditaria como resultado de fracaso para metabolizar galactosa da pie a cataratas
D-Manosa	Hidrólisis de gomas manano vegetales	Constituyente de glucoproteínas	

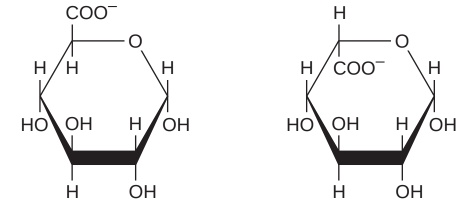


FIGURA 14-8 α-D-glucuronato (*izquierda*) y β-L-iduronato (*derecha*).

Los azúcares forman glucósidos con otros compuestos y entre sí

Los **glucósidos** se forman por condensación entre el grupo hidroxilo del carbono anomérico de un monosacárido, y un segundo compuesto que puede o no (en el caso de una **aglicona**) ser otro monosacárido. Si el segundo grupo es un hidroxilo, el enlace O-glucosídico es un enlace **acetal** porque se produce por una reacción entre un grupo hemiacetal (formado a partir de un aldehído y un grupo —OH) y otro grupo —OH. Si la porción hemiacetal es glucosa, el compuesto resultante es un **glucósido**; si es galactosa, un **galactósido**, y así sucesivamente. Si el segundo grupo es una amina, se forma un enlace *N*-glucosídico, por ejemplo, entre adenina y ribosa en nucleótidos como ATP (fig. 11-4).

Los glucósidos están ampliamente distribuidos en la Naturaleza; la aglicona puede ser metanol, glicerol, un esterol, un fenol, o una base como adenina. Los glucósidos importantes en medicina debido a su acción sobre el corazón **(glucósidos cardiacos)** contienen esteroides como la aglicona. Éstos incluyen derivados de la digital y del estrofanto, como **ouabaína**, un inhibidor de la Na^+-K^+ ATPasa de las membranas celulares. Otros glucósidos comprenden antibióticos como la **estreptomicina**.

Los azúcares desoxi carecen de un átomo de oxígeno

Los azúcares desoxi son aquellos en los cuales un grupo hidroxilo ha quedado remplazado por hidrógeno. Un ejemplo es la **desoxirribosa** (fig. 14-9) en el DNA. El azúcar desoxi l-fucosa (fig. 14-13) existe en glucoproteínas; la 2-desoxiglucosa se usa de forma experimental como un inhibidor del metabolismo de la glucosa.

Los azúcares amino (hexosaminas) son componentes de glucoproteínas, gangliósidos y glucosaminoglucanos

Los azúcares amino incluyen d-glucosamina, un constituyente del ácido hialurónico (fig. 14-10), d-galactosamina (también conocida como condrosamina), un constituyente de la condroitina y la d-manosamina. Varios **antibióticos** (p. ej., eritromicina) contienen azúcares amino, que son importantes para su actividad antibiótica.

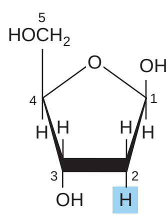


FIGURA 14-9 2-Desoxi-D-ribofuranosa (forma β).

FIGURA 14-10 Glucosamina (2-amino-D-glucopiranosa) (forma α). La galactosamina es una 2-amino-D-galactopiranosa. Tanto la glucosamina como la galactosamina existen como derivados *N*-acetilo en carbohidratos más complejos, por ejemplo, glucoproteínas.

La maltosa, sacarosa y lactosa son disacáridos importantes

Los disacáridos son azúcares compuestos de dos residuos monosacárido unidos por un enlace glucósido (fig. 14-11). Los disacáridos importantes en el aspecto fisiológico son maltosa, sacarosa y lactosa (cuadro 14-4). La hidrólisis de la sacarosa da una mezcla de glucosa y fructosa denominada "azúcar invertido" porque la fructosa es fuertemente levorrotatoria y cambia (invierte) la acción dextrorrotatoria más débil de la sacarosa.

LOS POLISACÁRIDOS DESEMPEÑAN FUNCIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTRUCTURALES

Los polisacáridos comprenden los siguientes carbohidratos de importancia fisiológica:

El **almidón** es un homopolímero de glucosa que forma una cadena α-glucosídica, llamada **glucosano** o **glucano**. Es el carbohidrato más importante de la dieta en cereales, papas (patatas), legumbres y otras verduras. Los dos constituyentes principales son **amilosa**

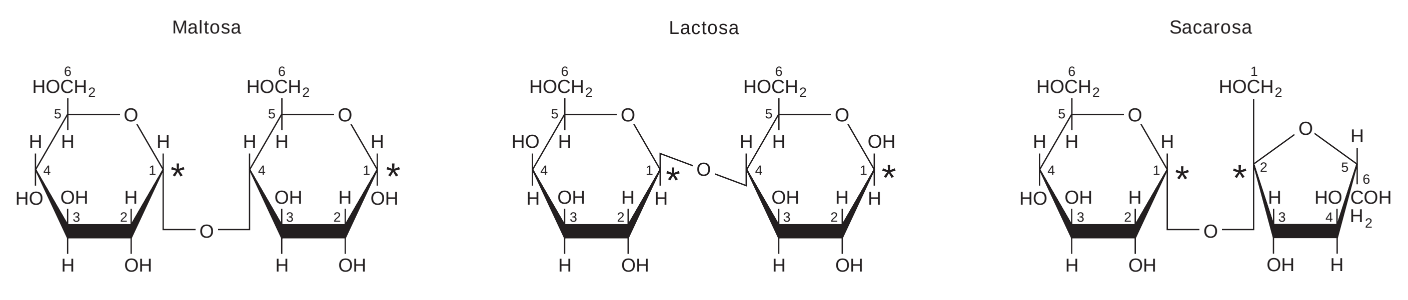


FIGURA 14-11 Estructuras de disacáridos importantes. La α y la β se refieren a la configuración del átomo de carbono anomérico (*). Cuando el carbono anomérico del segundo residuo participa en la formación de enlace glucosídico, como en la sacarosa, el residuo se convierte en un glucósido conocido como un furanósido o un piranósido. Dado que el disacárido ya no tiene un carbono anomérico con un grupo aldehído o cetona potencial libre, ya no muestra propiedades reductoras. La configuración del residuo β-fructofuranosa en la sacarosa se origina por giro de 180° e inversión de la molécula de β-fructofuranosa presentada en la figura 14-4.

CUADRO 14-4 Disacáridos de importancia fisiológica

Azúcar	Composición	Fuente	Importancia clínica
Sacarosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→2)-β-D-fructofuranósida	Azúcar de caña y de remolacha, sorgo y algunas frutas y verduras	La falta de sucrasa de origen genético, que es rara, lleva a intolerancia a la sacarosa —diarrea y flatulencia
Lactosa	O-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-glucopiranosa	Leche (y muchas preparaciones farmacéuticas como un relleno)	La falta de lactasa (alactasia) conduce a intolerancia a la lactosa —diarrea y flatulencia—; puede excretarse en la orina durante el embarazo
Maltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→4)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (amilasa); cereales germinados y malta	
Isomaltosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→6)-α-D-glucopiranosa	Hidrólisis enzimática del almidón (los puntos de ramificación en la amilopectina)	
Lactulosa	O-α-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-fructofuranosa	Leche calentada (pequeñas cantidades), principalmente sintética	Las enzimas intestinales no la hidrolizan, pero las bacterias intestinales la fermentan; se usa como laxante osmótico leve
Trehalosa	O-α-D-glucopiranosil-(1→1)-α-D-glucopiranosida	Levaduras y hongos; el principal azúcar de la hemolinfa de insectos	

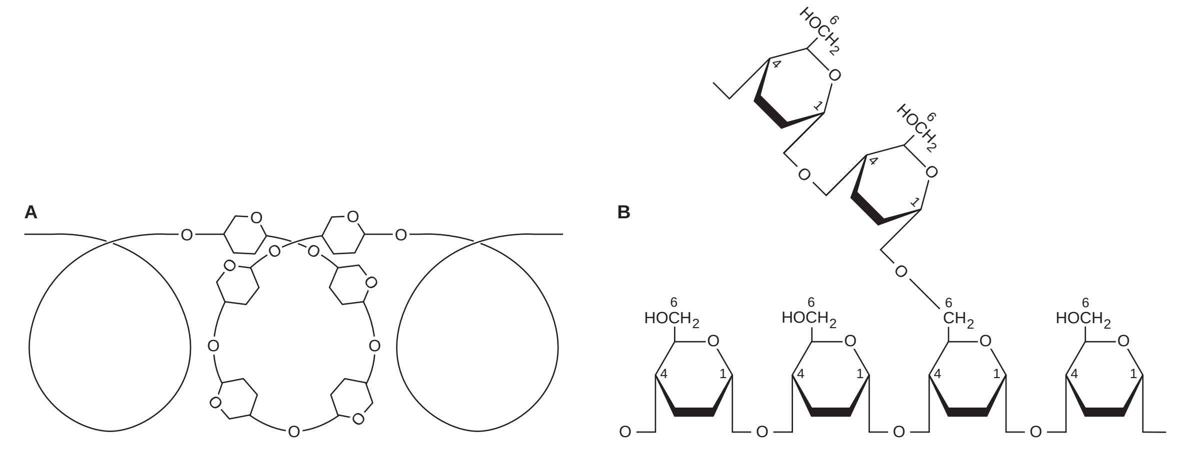


FIGURA 14-12 Estructura del almidón. **(A)** Amilosa, que muestra estructura en espiral helicoidal. **(B)** Amilopectina, que muestra punto de ramificación 1 → 6.

(13 a 20%), que tiene una estructura helicoidal no ramificada, y **amilopectina** (80 a 85%), que consta de cadenas ramificadas compuestas de 24 a 30 residuos de glucosa unidos por enlaces α1 → 4 en las cadenas, y por enlaces α1 → 6 en los puntos de ramificación (fig. 14-12).

El grado al cual la amilasa hidroliza el almidón en los alimentos está determinado por su estructura, el nivel de cristalización o hidratación (el resultado del cocinado), y por el hecho de si está encerrado en paredes de células vegetales intactas (e indigeribles). El **índice glucémico** de un alimento feculento es una medida de su digestibilidad, con base en el grado al cual aumenta la concentración de glucosa en sangre en comparación con una cantidad equivalente de glucosa o un alimento de referencia, como pan blanco o arroz hervido.

El **glucógeno** (fig. 14-13) es el polisacárido de almacenamiento en animales, y a veces se llama almidón animal. Es una estructura más ramificada que la amilopectina con cadenas de residuos 12-14 α-d-glucopiranosa (en enlace α1 → 4 glucosídico) con ramificación mediante enlaces α1 → 6 glucosídicos. La **inulina** es un polisacárido de la fructosa (y, en consecuencia, un fructosano) que se encuentra en tubérculos y raíces de dalias, alcachofas y dientes de león. Es fácilmente soluble en agua y se usa para determinar el índice de filtración glomerular, pero las enzimas intestinales no la hidrolizan. Las **dextrinas** son intermediarios en la hidrólisis del almidón. La **celulosa** es el principal constituyente de las paredes de las células vegetales. Es insoluble y consta de unidades de β-d-glucopiranosa unidas por enlaces β1 → 4 para formar cadenas largas y rectas fortalecidas por enlaces de hidrógeno que se entrecruzan. Los mamífe-

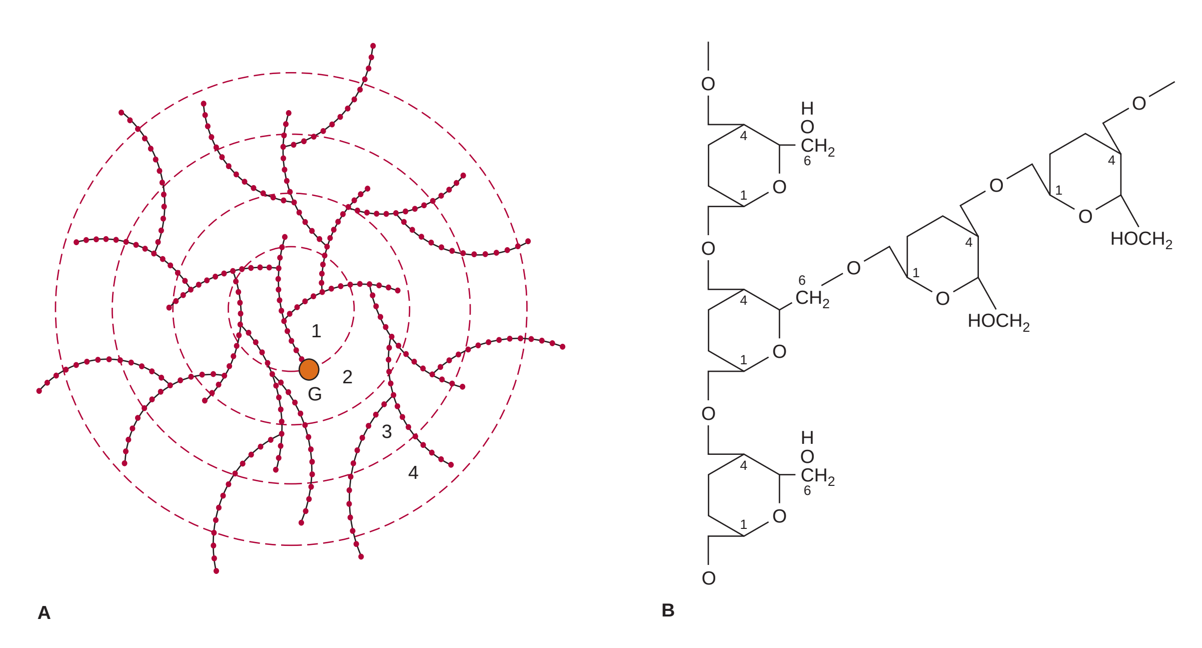


FIGURA 14-13 La molécula de glucógeno. **(A)** Estructura general. **(B)** Agrandamiento de la estructura en un punto de ramificación. La molécula es una esfera de ~21 nm de diámetro que puede observarse en micrografías electrónicas. Tiene una masa molecular de ~10^7 Da y consta de cadenas de polisacárido, cada una de las cuales contiene alrededor de 13 residuos glucosa. Las cadenas son ramificadas o no ramificadas, y están dispuestas en 12 capas concéntricas (en la figura sólo se muestran cuatro). Las cadenas ramificadas (cada una de las cuales tiene dos ramas) se encuentran en las capas internas, y las cadenas no ramificadas, en la capa externa. (G, glucogenina, la molécula preparadora para la síntesis de glucógeno.)

ros carecen de enzimas que hidrolicen los enlaces β1 → 4; de esta manera, no pueden digerir la celulosa. Es una fuente importante de “volumen” en la dieta, y el principal componente de la fibra de la misma. Los microorganismos que se encuentran en el intestino de rumiantes y otros herbívoros pueden hidrolizar el enlace y fermentar los productos hacia ácidos grasos de cadena corta como una importante fuente de energía. Hay cierto metabolismo bacteriano de celulosa en el colon de seres humanos. La **quitina** es un polisacárido estructural en el exoesqueleto de crustáceos e insectos, y en hongos. Consta de unidades de *N*-acetil-d-glucosamina unidas por enlaces β1 → 4 glucosídicos (fig. 14-14).

Los **glucosaminoglucanos** (mucopolisacáridos) son carbohidratos complejos que contienen **azúcares amino** y **ácidos urónicos**. Pueden estar fijos a una molécula de proteína, lo que forma un **proteoglucano**. Los proteoglucanos proporcionan la sustancia fundamental o de relleno del tejido conjuntivo. Sostienen grandes cantidades de agua y ocupan espacio, lo que amortigua o lubrica otras estructuras, debido al gran número de grupos —OH y cargas negativas en la molécula que, por repulsión, mantienen separadas las cadenas de carbohidrato. Los ejemplos son el **ácido hialurónico**, el **condroitín sulfato** y la **heparina** (fig. 14-14).

Las **glucoproteínas** (también conocidas como mucoproteínas) son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido ramificadas o no ramificadas (cuadro 14-5, fig. 14-15); se encuentran en membranas celulares (caps. 40 y 47) y en muchas otras situaciones; la albúmina sérica es una glucoproteína. Los **ácidos siálicos** son derivados *N*- u *O*-acilo del **ácido neuramínico** (fig. 14-16); este último es un azúcar de nueve carbonos derivado de la manosamina (un epímero de la glucosamina) y el piruvato. Los ácidos siálicos son constituyentes tanto de **glucoproteínas** como de **gangliósidos**.

CUADRO 14-5 Carbohidratos que se encuentran en glucoproteínas

Hexosas	Manosa (Man), galactosa (Gal)
Acetil hexosaminas	*N*-acetilglucosamina (GlcNAc), *N*-acetil galactosamina (GalNAc)
Pentosas	Arabinosa (Ara), xilosa (Xil)
Metil pentosa	L-fucosa (Fuc, fig. 14-15)
Ácidos siálicos	Derivados *N*-acilo del ácido neuramínico; el ácido siálico predominante es ácido *N*-acetil-neuramínico (NeuAc, fig.14-16)

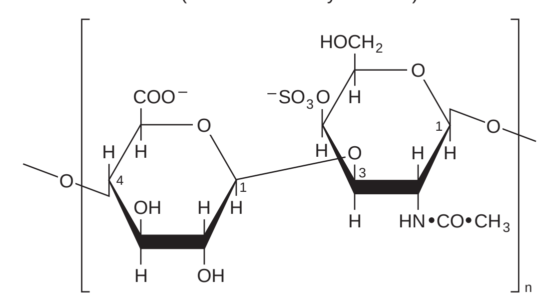
Quitina

N-acetilglucosamina *N*-acetilglucosamina

Ácido hialurónico

Ácido β-glucurónico *N*-acetilglucosamina

Condroitín 4-sulfato
(Nota: también hay 6-sulfato)



Ácido β-glucurónico Sulfato de *N*-acetilgalactosamina

Heparina

Glucosamina sulfatada Ácido idurónico sulfatado

FIGURA 14-14 Estructura de algunos polisacáridos y glucosaminoglucanos complejos.

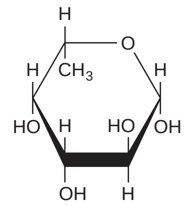


FIGURA 14-15 β-L-Fucosa (6-desoxi-β-L-galactosa).

FIGURA 14-16 Estructura del ácido *N*-acetilneuramínico, un ácido siálico (Ac = CH_3—CO—).

LOS CARBOHIDRATOS SE ENCUENTRAN EN MEMBRANAS CELULARES Y EN LIPOPROTEÍNAS

Alrededor de 5% del peso de las membranas celulares es carbohidrato en glucoproteínas y glucolípidos. Su presencia sobre la superficie externa de la membrana plasmática (el **glucocáliz**) se ha mostrado con el uso de **lectinas** vegetales, aglutininas proteínicas que unen residuos glucosilo específicos. Por ejemplo, la **concanavalina A** une residuos α-glucosilo y α-manosilo. La **glucoforina** es una importante glucoproteína de membrana integral de los eritrocitos del ser humano. Tiene 130 residuos aminoácido y abarca la membrana lipídica, con regiones polipeptídicas fuera de las superficies tanto externa como interna (citoplásmica). Las cadenas de carbohidrato están fijas a la porción amino terminal fuera de la superficie externa. Los carbohidratos también están presentes en apo-proteína B de lipoproteínas plasmáticas.

RESUMEN

- Los carbohidratos son constituyentes importantes del alimento de los animales y del tejido de éstos. Se caracterizan por el tipo y número de residuos monosacárido en sus moléculas.
- La glucosa es el carbohidrato de mayor importancia en la bioquímica de mamíferos, porque casi todo el carbohidrato en los alimentos se convierte en glucosa para el metabolismo.
- Los azúcares tienen grandes números de estereoisómeros porque contienen varios átomos de carbono asimétricos.
- Los monosacáridos de mayor importancia siológica son la glucosa, el "azúcar de la sangre" y la ribosa, un importante constituyente de nucleótidos y ácidos nucleicos.
- Los disacáridos importantes son maltosa (glucosil glucosa), un intermediario en la digestión del almidón; la sacarosa (glucosil fructosa), importante como un constituyente de la dieta, que contiene fructosa, y la lactosa (galactosil glucosa), en la leche.
- El almidón y el glucógeno son polímeros de glucosa de almacenamiento en vegetales y animales, respectivamente. El almidón es la principal fuente de energía en la dieta.
- Los carbohidratos complejos contienen otros derivados de azúcar como azúcares amino, ácidos urónicos y ácidos siálicos. Incluyen proteoglucanos y glucosaminoglucanos, que se relacionan con elementos estructurales de los tejidos, y glucoproteínas, que son proteínas que contienen cadenas de oligosacárido; se encuentran en muchas situaciones, incluso en la membrana celular.

REFERENCIAS

Davis BG, Fairbanks AJ: *Carbohydrate Chemistry*. Oxford University Press, 2002.

Ernst B, Hart GW, Sinay P: *Carbohydrates in Chemistry and Biology*. Wiley-VCH, 2000.

Lindhorst TK, isbe K: *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 3rd ed. Wiley-VCH, 2007.

CAPÍTULO

15

Lípidos de importancia fisiológica

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los lípidos son un grupo de compuestos heterogéneo, que incluye grasas, aceites, esteroides, ceras y compuestos relacionados más por sus propiedades físicas que por sus propiedades químicas. Tienen la propiedad común de ser: 1) relativamente **insolubles en agua** y 2) **solubles en solventes no polares**, como éter y cloroformo. Son importantes constituyentes de la dieta no sólo debido a su alto valor energético, sino también debido a las vitaminas liposolubles y los ácidos grasos esenciales contenidos en la grasa de alimentos naturales. La grasa se almacena en el **tejido adiposo**, donde también sirve como un aislante térmico de los tejidos subcutáneos y alrededor de ciertos órganos. Los lípidos no polares actúan como **aisladores eléctricos**, lo que permite la propagación rápida de las ondas de despolarización a lo largo de **nervios mielinizados**. Las combinaciones de lípido y proteína (lipoproteínas) sirven como el medio para **transportar lípidos** en la sangre. El conocimiento de las propiedades bioquímicas de los lípidos se necesita para entender muchas áreas biomédicas importantes, como **obesidad**, **diabetes mellitus**, **aterosclerosis**, y la función de diversos **ácidos grasos poliinsaturados** en la nutrición y la salud.

LOS LÍPIDOS SE CLASIFICAN COMO SIMPLES O COMPLEJOS

1. **Lípidos simples:** ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes.
   a. **Grasas:** ésteres de ácidos grasos con glicerol. Los **aceites** son grasas en el estado líquido.
   b. **Ceras:** ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de masa molecular relativa (peso molecular) más alta.
2. **Lípidos complejos:** ésteres de ácidos grasos que contienen grupos además de un alcohol y un ácido graso.
   a. **Fosfolípidos:** lípidos que contienen, además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo ácido fosfórico. A menudo poseen bases que contienen nitrógeno y otros sustituyentes; por ejemplo, en los **glicerofosfolípidos** el alcohol es glicerol, y en los **esfingofosfolípidos** el alcohol es la esfingosina.
   b. **Glucolípidos (glucoesfingolípidos):** lípidos que contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidrato.
   c. **Otros lípidos complejos:** lípidos como sulfolípidos y aminolípidos. Las lipoproteínas también pueden colocarse en esta categoría.
3. **Lípidos precursores y derivados:** comprenden ácidos grasos, glicerol, esteroides, otros alcoholes, aldehídos grasos, cuerpos cetónicos (cap. 22), hidrocarburos, vitaminas liposolubles y hormonas.

Dado que no tienen carga, los acilgliceroles (glicéridos), el colesterol y los ésteres de colesterol se llaman **lípidos neutrales**.

LOS ÁCIDOS GRASOS SON ÁCIDOS CARBOXÍLICOS ALIFÁTICOS

Los ácidos grasos se encuentran en el cuerpo principalmente como ésteres en grasas y aceites naturales, pero existen en la forma no esterificada como **ácidos grasos libres**, una forma que se transporta en el plasma. Los ácidos grasos que se hallan en grasas naturales por lo general contienen un número par de átomos de carbono. La cadena puede ser **saturada** (que no contiene dobles enlaces) o **insaturada** (que contiene uno o más dobles enlaces).

Los ácidos grasos se denominan con base en los hidrocarburos correspondientes

La nomenclatura sistemática de uso más frecuente denomina al ácido graso con base en el hidrocarburo con el mismo nombre y ordenamiento de átomos de carbono; la **-o** final se sustituye por -**oico** (sistema ginebrino). De este modo, los ácidos saturados terminan en **-anoico**, por ejemplo, ácido octanoico, y los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces terminan en **-enoico,** por ejemplo, ácido octadecenoico (ácido oleico).

Los átomos de carbono se numeran desde el carbono carboxilo (carbono núm. 1). Los átomos de carbono adyacentes al carbono carbonilo (núms. 2, 3 y 4) también se conocen como los carbonos α, β y γ, respectivamente, y el carbono metilo terminal recibe el nombre de carbono ω o n.

En diversas fuentes se usa Δ para indicar el número y la posición de los dobles enlaces (fig. 15-1); por ejemplo, Δ^9 indica un doble enlace entre los carbonos 9 y 10 del ácido graso; ω9 denota un doble enlace en el noveno carbono contando desde el carbono ω. En animales, se introduce un doble enlace adicional entre el doble enlace existente (p. ej., ω9, ω6 o ω3) y el carbono carboxilo, lo que conduce a tres series de ácidos grasos conocidos como las familias ω9, ω6 y ω3, respectivamente.

18:1;9 *o* Δ^9 18:1

$$\overset{18}{CH_3}(CH_2)_7\overset{10}{CH}=\overset{9}{CH}(CH_2)_7\overset{1}{COOH}$$

o

ω9,C18:1 *o* n–9, 18:1

$$\underset{n}{\overset{\omega}{CH_3}}\underset{17}{\overset{2}{CH_2}}\overset{3}{CH_2}\overset{4}{CH_2}\overset{5}{CH_2}\overset{6}{CH_2}\overset{7}{CH_2}\overset{8}{CH_2}\underset{10}{\overset{9}{CH}}=\underset{9}{\overset{10}{CH}}(CH_2)_7\underset{1}{\overset{18}{COOH}}$$

FIGURA 15-1 Ácido oleico. n – 9 (n menos 9) es equivalente a ω9.

Los ácidos grasos saturados no contienen dobles enlaces

Los ácidos grasos saturados pueden imaginarse como basados en ácido acético (CH_3—COOH) como el primer miembro de la serie en la cual se agrega de manera progresiva —CH2— entre los grupos CH_3— y —COOH terminales. En el cuadro 15-1 se muestran ejemplos. Se sabe que existen otros miembros de la serie con más carbonos, sobre todo en ceras. Algunos ácidos grasos de cadena ramificada se han aislado a partir de fuentes tanto vegetales como animales.

Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces

Los ácidos grasos insaturados (cuadro 15-2) pueden subdividirse como sigue:

1. Ácidos **monoinsaturados** (monoetenoide, monoenoico) que contienen un doble enlace.
2. Ácidos **poliinsaturados** (polietenoide, polienoico), que contienen dos o más dobles enlaces.
3. **Eicosanoides:** estos compuestos, derivados de ácidos grasos polienoicos eicosa (20 carbonos), incluyen **prostanoides**, **leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)**. Los prostanoides comprenden **prostaglandinas (PG)**, **prostaciclinas (PGI)** y **tromboxanos (TX)**.

CUADRO 15-1 Ácidos grasos saturados

Nombre común	Número de átomos de C	
Acético	2	Producto terminal principal de la fermentación de carbohidratos por organismos del rumen
Butírico	4	En ciertas grasas en pequeñas cantidades (en particular mantequilla). Principal producto terminal de la fermentación de carbohidrato por organismos del rumen*
Valérico	5	
Caproico	6	
Láurico	12	Esperma de ballena; canela, palma y coco; laurel; mantequilla
Mirístico	14	Aceites de nuez moscada, palma y coco; arrayán (mirto); mantequilla
Palmítico	16	Común en todas las grasas de origen animal y vegetal
Esteárico	18	

* También se forma en el ciego de herbívoros y en menor grado en el colon de seres humanos.

Las **prostaglandinas** existen en casi todos los tejidos de mamíferos y actúan como hormonas locales; tienen importantes actividades fisiológicas y farmacológicas. Se sintetizan *in vivo* por medio de ciclización por el centro de la cadena de carbono de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos (eicosanoicos) (p. ej., ácido araquidónico) para formar un anillo ciclopentano (fig. 15-2). Una serie relacionada de compuestos, los **tromboxanos**, tiene el anillo ciclopentano interrumpido con un átomo de oxígeno (anillo oxano) (fig. 15-3). Tres diferentes ácidos grasos eicosanoicos dan lugar a tres grupos de eicosanoides caracterizados por el número de dobles enlaces en las cadenas laterales, por ejemplo, PG_1, PG_2, PG_3.

Tanto en la serie de prostaglandinas como en la de tromboxanos, diferentes grupos de sustituyentes dan lugar a estructuras identificadas como A, B, etc.; por ejemplo, el tipo "E" de prostaglandina (PGE_2) tiene un grupo ceto en la posición 9, mientras que el tipo "F" tiene un grupo hidroxilo en esta posición. Los **leucotrienos** y las **lipoxinas** (fig. 15-4) son un tercer grupo de derivados eicosanoides formados mediante la vía de la lipooxigenasa (fig. 23-11). Se caracterizan por la presencia de tres o cuatro dobles enlaces conjugados, respectivamente. Los leucotrienos causan broncoconstricción; son potentes agentes proinflamatorios y están implicados en el **asma**.

Casi todos los ácidos grasos insaturados naturales tienen dobles enlaces *cis*

Las cadenas de carbono de ácidos grasos saturados forman un modelo en zigzag cuando se extienden a temperaturas bajas. A temperaturas más altas, algunos enlaces rotan, lo que da por resultado acortamiento de la cadena; ello explica por qué las biomembranas se hacen más delgadas con los aumentos de la temperatura. En los ácidos grasos insaturados se observa un tipo de **isomerismo geométrico**, según la orientación de átomos o grupos alrededor de los ejes de dobles enlaces, que impide la rotación. Si las cadenas acilo están en el mismo lado del enlace, es *cis*-, como en el ácido oleico; si están en lados opuestos, es *trans*-, como en el ácido elaídico, el isómero *trans* del ácido oleico (fig. 15-5). Casi todos los dobles enlaces en ácidos grasos de cadena larga insaturados presentes de manera natural están en la configuración *cis*; las moléculas están "dobladas" 120 grados en el doble enlace. De este modo, el ácido oleico tiene una forma de L, mientras que el ácido elaídico permanece "recto". El incremento del número de dobles enlaces *cis* en un ácido graso da pie a diversas posibles configuraciones espaciales de la molécula; p. ej., el ácido araquidónico, con cuatro dobles enlaces *cis*, está doblado en forma de U. Esto tiene profunda importancia para la organización molecular en membranas celulares y sobre las posiciones ocupadas por ácidos grasos en moléculas más complejas, como los fosfolípidos. Los dobles enlaces *trans* alteran estas relaciones espaciales. Los **ácidos grasos *trans*** están presentes en ciertos alimentos, y surgen como un subproducto de la saturación de ácidos grasos durante hidrogenación, o "solidificación" de aceites naturales en la manufactura de margarina. Una pequeña contribución adicional proviene de la ingestión de grasa de rumiante que contiene ácidos grasos *trans*, sintetizados a partir de la acción de microorganismos en el rumen. Ahora se sabe que el consumo de ácidos grasos *trans* es nocivo para la salud, y se relaciona con aumento del riesgo de enfermedades, entre ellas enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus. Esto ha llevado a desarrollar tecnología mejorada para producir margarina blanda con bajo o nulo contenido de ácidos grasos *trans*.

CUADRO 15-2 Ácidos grasos insaturados de importancia fisiológica y nutricional

Número de átomos de C y número y posición de dobles enlaces comunes	Familia	Nombre común	Nombre sistemático	Presencia
			Ácidos monoenoicos (un doble enlace)	
16:1;9	ω7	Palmitoleico	*cis*-9-Hexadecenoico	En todas las grasas.
18:1;9	ω9	Oleico	*cis*-9-Octadecenoico	Es quizá el ácido graso más común en grasas naturales; especialmente alto en el aceite de oliva.
18:1;9	ω9	Elaídico	*trans*-9-Octadecenoico	Grasas hidrogenadas y de rumiantes.
			Ácidos dienoicos (dos dobles enlaces)	
18:2;9,12	ω6	Linoleico	todo-*cis*-9,12-Octadecadienoico	Aceites de maíz, cacahuate (maní), semilla de algodón, soya (soja) y muchos aceites vegetales.
			Ácidos trienoicos (tres dobles enlaces)	
18:3;6,9,12	ω6	γ-Linolénico	todo-*cis*-6,9,12-Octadecatrienoico	Algunas plantas, por ejemplo, aceite de onagra, aceite de borraja; ácido graso menor en animales.
18:3;9,12,15	ω3	α-Linolénico	todo-*cis*-9,12,15-Octadecatrienoico	Suele encontrarse con ácido linoleico, pero en particular en el aceite de linasa.
			Ácidos tetraenoicos (4 dobles enlaces)	
20:4;5,8,11,14	ω6	Araquidónico	todo-*cis*-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Se encuentra en grasas de origen animal; componente importante de fosfolípidos en animales.
			Ácidos pentaenoicos (cinco dobles enlaces)	
20:5;5,8,11,14,17	ω3	Timnodónico	todo-*cis*-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	Componente importante de aceites de pescado, por ejemplo, aceites de hígado de bacalao, caballa, sábalo, salmón.
			Ácidos hexaenoicos (seis dobles enlaces)	
22:6;4,7,10,13,16,19	ω3	Cervónico	todo-*cis*-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Aceites de pescado, fosfolípidos en el cerebro.

FIGURA 15-2 Prostaglandina E_2 (PGE_2).

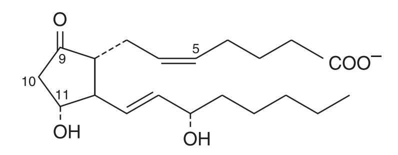


FIGURA 15-3 Tromboxano A_2 (TXA_2).

FIGURA 15-4 Leucotrieno A_4 (LTA_4).

FIGURA 15-5 Isomerismo geométrico de Δ^9, ácidos grasos 18:1 (ácidos oleico y elaídico).

Las propiedades físicas y fisiológicas de ácidos grasos reflejan la longitud de la cadena y el grado de insaturación

El punto de fusión de ácidos grasos con un número par de carbonos se incrementa con la longitud de la cadena y disminuyen de acuerdo con la insaturación. Un triacilglicerol que contiene tres ácidos grasos saturados de 12 carbonos o más es sólido a la temperatura corporal, mientras que si los residuos ácido graso son 18:2, es líquido hasta por debajo de 0°C. En la práctica, los acilgliceroles naturales contienen una mezcla de ácidos grasos adaptados para que satisfagan sus necesidades funcionales. Los lípidos de membrana, que deben ser líquidos a todas las temperaturas ambientales, están más insaturados que los lípidos de almacenamiento. Los lípidos en los tejidos que están sujetos a enfriamiento, por ejemplo, en hibernadores o en las extremidades de animales, están más insaturados.

LOS TRIACILGLICEROLES (TRIGLICÉRIDOS)* SON LAS PRINCIPALES FORMAS DE ALMACENAMIENTO DE ÁCIDOS GRASOS

Los triacilgliceroles (fig. 15-6) son ésteres del alcohol trihidroxilado glicerol y ácidos grasos. Los monoacilgliceroles y los diacilgliceroles, en los cuales uno o dos ácidos grasos están esterificados al glicerol, también se encuentran en los tejidos. Estos últimos tienen particular importancia en la síntesis e hidrólisis de triacilgliceroles.

Los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos

A fin de numerar los átomos de carbono del glicerol de manera no ambigua, se usa el sistema -*sn* (del inglés, *stereochemical numbering*, numeración estereoquímica). Tiene importancia percatarse de que los carbonos 1 y 3 del glicerol no son idénticos cuando se observan en tres dimensiones (que se muestran como una fórmula de proyección en la fig. 15-7). Las enzimas distinguen con facilidad entre ellos, y casi siempre son específicas para un carbono o para el otro; por ejemplo, el glicerol siempre es fosforilado en *sn*-3 por la glicerol cinasa para dar glicerol 3-fosfato y no glicerol 1-fosfato.

LOS FOSFOLÍPIDOS SON LOS PRINCIPALES CONSTITUYENTES LÍPIDOS DE MEMBRANAS

Los fosfolípidos pueden considerarse derivados del **ácido fosfatídico** (fig. 15-8), en el cual el fosfato está esterificado con el —OH de un alcohol idóneo. El ácido fosfatídico es importante como intermediario en la síntesis de triacilgliceroles, así como de fosfogliceroles, pero no se encuentra en gran cantidad en los tejidos.

*De acuerdo con la terminología estandarizada de la *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) y la *International Union of Biochemistry* (IUB), los monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos deben designarse monoacilgliceroles, diacilgliceroles y triacilgliceroles, respectivamente. Sin embargo, la terminología más antigua aún recibe una amplia difusión, sobre todo en medicina clínica.

R_2—C(=O)—O—^{2}CH; $^1CH_2$—O—C(=O)—R_1; $^3CH_2$—O—C(=O)—R_2

FIGURA 15-6 Triacilglicerol.

$H_2\overset{1}{C}$—O—C(=O)—R_1; R_2—C(=O)—O—^{2}C—H; $H_2\overset{3}{C}$—O—C(=O)—R_3

FIGURA 15-7 Triacil-*sn*-glicerol.

Las fosfatidilcolinas (lecitinas) se encuentran en membranas celulares

Los fosfoacilgliceroles que contienen colina (fig. 15-8) son los fosfolípidos más abundantes de la membrana celular y representan una proporción grande de la reserva de colina del cuerpo. La colina es importante en la transmisión nerviosa, como acetilcolina, y como una reserva de grupos metilo lábiles. La **dipalmitoil lecitina** es un agente tensoactivo muy eficaz y un constituyente fundamental del **surfactante** que evita la adherencia, debido a tensión superficial de las superficies internas de los pulmones. Su ausencia en los pulmones de prematuros causa **síndrome de dificultad respiratoria**. Casi todos los fosfolípidos tienen un radical acilo saturado en la posición *sn*-1, pero un radical insaturado en la posición *sn*-2 del glicerol.

La **fosfatidiletanolamina (cefalina)** y la **fosfatidilserina** (que se encuentra en casi todos los tejidos) también se hallan en las membranas celulares, y sólo difieren de la fosfatidilcolina en que la etanolamina o serina, respectivamente, remplaza a la colina (fig. 15-8). La fosfatidilserina también participa en la apoptosis (muerte celular programada).

El fosfatidilinositol es un precursor de segundos mensajeros

El inositol está presente en el **fosfatidilinositol** como el estereoisómero, mioinositol (fig. 15-8). El **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato** es un constituyente de importancia de los fosfolípidos de membrana celular; en el momento de la estimulación por una hormona agonista idónea, se divide hacia **diacilglicerol** e **inositol trifosfato**, los cuales actúan como señales internas o segundos mensajeros.

Ácido fosfatídico

A

Colina

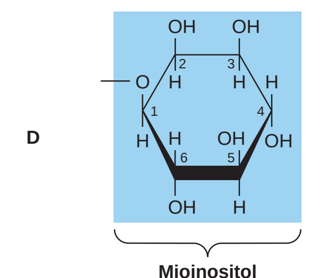
B

Etanolamina

C

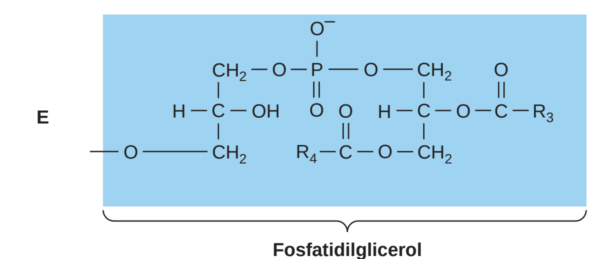
Serina

D



Mioinositol

E



Fosfatidilglicerol

FIGURA 15-8 Ácido fosfatídico y sus derivados. El O^- que se muestra sombreado en el ácido fosfatídico es sustituido por los sustituyentes que, según se muestra, forman en **(A)** 3-fosfatidilcolina, **(B)** 3-fosfatidiletanolamina, **(C)** 3-fosfatidilserina, **(D)** 3-fosfatidilinositol y **(E)** cardiolipina (difosfatidilglicerol).

La cardiolipina es un importante lípido de las membranas mitocondriales

El ácido fosfatídico es un precursor del **fosfatidilglicerol** que, a su vez, da lugar a la **cardiolipina** (fig. 15-8). Este fosfolípido sólo se encuentra en las mitocondrias y es esencial para la función de las mismas. El decremento de las concentraciones de cardiolipina o las alteraciones de su estructura o metabolismo causan disfunción mitocondrial en el envejecimiento y en estados patológicos, entre ellos insuficiencia cardiaca, hipotiroidismo y síndrome de Barth (miopatía cardioesquelética).

Colina

FIGURA 15-9 Lisofosfatidilcolina (lisolecitina).

Etanolamina

FIGURA 15-10 Plasmalógeno.

Los lisofosfolípidos son intermediarios en el metabolismo de fosfogliceroles

Son fosfoacilgliceroles que contienen sólo un radical acilo, por ejemplo, la **lisofosfatidilcolina (lisolecitina)** (fig. 15-9), importante en el metabolismo y la interconversión de fosfolípidos. También se encuentra en lipoproteínas oxidadas y se considera que algunos de sus efectos promueven la **aterosclerosis**.

Los plasmalógenos se encuentran en el cerebro y el músculo

Dichos compuestos constituyen hasta 10% de los fosfolípidos del cerebro y el músculo. Desde el punto de vista estructural, los plasmalógenos semejan fosfatidiletanolamina, pero poseen un enlace éter en el carbono *sn*-1 en lugar del enlace éster que se encuentra en acilgliceroles. En forma típica, el radical alquilo es un alcohol insaturado (fig. 15-10). En algunos casos, la etanolamina puede sustituirse por colina, serina o inositol.

Las esfingomielinas se encuentran en el sistema nervioso

Las esfingomielinas se encuentran en grandes cantidades en el cerebro y el tejido nervioso. En el momento de la hidrólisis, las esfingomielinas dan un ácido graso, ácido fosfórico, colina, y un amino alcohol complejo, la **esfingosina** (fig. 15-11). No hay glicerol. La combinación de esfingosina más ácidos grasos se conoce como **ceramida**, estructura que también se encuentra en los glucoesfingolípidos (véase más adelante).

LOS GLUCOLÍPIDOS (GLUCOESFINGOLÍPIDOS) SON IMPORTANTES EN LOS TEJIDOS NERVIOSOS Y EN LA MEMBRANA CELULAR

Los glucolípidos están ampliamente distribuidos en todos los tejidos del cuerpo, en particular en el tejido nervioso, como el cerebro. Se

Ceramida
Esfingosina
$CH_3-(CH_2)_{12}-CH=CH-CH(OH)-CH(CH_2-O-PO(O^-)-O-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3)-NH-C(=O)-R$
Ácido graso
Ácido fosfórico
Colina

FIGURA 15-11 Una esfingomielina.

Ceramida (acil-esfingo-sina) — Glucosa — Galactosa — N-acetilgalactosamina — Galactosa
NeuAc (unido a Galactosa)

o

Cer — Glc — Gal — GalNAc — Gal
NeuAc (unido a Gal)

FIGURA 15-13 Gangliósido GM1, un monosialogangliósido, el receptor para la toxina del cólera en el intestino del ser humano.

encuentran sobre todo en la cara externa de la membrana plasmática, donde contribuyen a **carbohidratos de superficie celular**.

Los principales glucolípidos que se encuentran en tejidos de animales son glucoesfingolípidos. Contienen ceramida y uno o más azúcares. La **galactosilceramida** es el más importante glucoesfingolípido del cerebro y otros tejidos nerviosos, y se encuentra en cantidades relativamente bajas en otros sitios. Contiene varios ácidos grasos C24 característicos, por ejemplo, ácido cerebrónico.

La galactosilceramida (fig. 15-2) puede convertirse en sulfogalactosilceramida (**sulfatido**), presente en altas cantidades en la mielina. La glucosilceramida es el glucoesfingolípido simple predominante de tejidos extraneurales; también se encuentra en el cerebro en pequeñas cantidades. Los **gangliósidos** son glucoesfingolípidos complejos derivados de la glucosilceramida, que además contienen una o más moléculas de un **ácido siálico**. El ácido acetilneuramínico (NeuAc; cap. 14) es el principal ácido siálico que se encuentra en los tejidos del ser humano. Los gangliósidos también están presentes en cifras altas en tejidos nerviosos; parecen tener funciones de receptor y otras. El gangliósido más simple que se encuentra en los tejidos es GM_3, que contiene ceramida, una molécula de glucosa, una molécula de galactosa y una molécula de NeuAc. En la nomenclatura taquigráfica usada, G representa gangliósido; M es una especie que contiene monosialo y el número en subíndice 3 es asignado con base en la migración cromatográfica. GM1 (fig. 15-13), un gangliósido más complejo derivado de GM_3, despierta considerable interés biológico, puesto que se sabe que en el intestino del ser humano es el receptor para la toxina del cólera. Otros gangliósidos pueden contener una a cinco moléculas de ácido siálico, lo que da lugar a disialogangliósidos, trisialogangliósidos, etcétera.

LOS ESTEROIDES DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES IMPORTANTES EN EL ASPECTO FISIOLÓGICO

El **colesterol** es quizá el esteroide mejor conocido debido a su relación con la **aterosclerosis** y las enfermedades cardiacas; también es significativo desde el punto de vista bioquímico porque es el precursor de un gran número de **esteroides** igual de importantes que comprenden los ácidos biliares, hormonas adrenocorticales, hormonas sexuales, vitaminas D, glucósidos cardiacos, sitoesteroles del reino vegetal y algunos alcaloides.

Todos los esteroides tienen núcleo cíclico similar al del fenantreno (anillos A, B y C) al cual está fijo un anillo ciclopentano (D). Las posiciones de carbono en el núcleo esteroide se numeran como se muestra en la figura 15-14. Es importante percatarse de que en

A B C D
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

FIGURA 15-14 El núcleo esteroide.

Ceramida
Esfingosina
$CH_3-(CH_2)_{12}-CH=CH-CH(OH)-CH-NH-C(=O)-CH(OH)-(CH_2)_{21}-CH_3$
Ácido graso (p. ej., ácido cerebrónico)
Galactosa
CH_2OH, O, HO, H, OR, H, H, 3, H, OH, $O-CH_2$

FIGURA 15-12 Estructura de la galactosilceramida (galactocerebrósido, R = H), y sulfogalactosilceramida (una sulfatida, R = SO_4^{2-}).

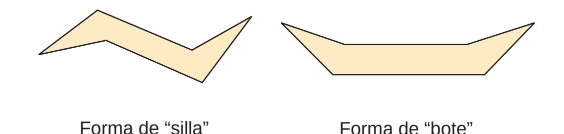


FIGURA 15-15 Conformaciones de estereoisómeros del núcleo esteroide.

fórmulas estructurales de esteroides, un anillo hexagonal simple denota un anillo de seis carbonos por completo saturado, con todas las valencias satisfechas por enlaces hidrógeno, a menos que se muestre lo contrario; es decir, no es un anillo benceno. Todos los dobles enlaces se muestran como tales. Los grupos metilo se unen mediante enlaces únicos sueltos en el extremo más lejano (metilo), mismos que existen típicamente en las posiciones 10 y 13 (que constituyen los átomos C 19 y 18). Una cadena lateral en la posición 17 es habitual (como en el colesterol). Si el compuesto tiene uno o más grupos hidroxilo y ningún grupo carbonilo o carboxilo, es un **esterol**, y el nombre termina en *-ol*.

FIGURA 15-17 Colesterol, 3-hidroxi-5,6-colesteno.

FIGURA 15-18 Ergosterol.

Debido a asimetría en la molécula de esteroide, muchos estereoisómeros son posibles

Cada uno de los anillos de seis carbonos del núcleo esteroide tiene la capacidad de existir en la conformación tridimensional de “silla” o de “bote” (fig. 15-15). En los esteroides que existen de modo natural, casi todos los anillos están en la forma de “silla”, que es la conformación más estable. Los anillos pueden ser *cis* o *trans*, en función uno del otro (fig. 15-16). La unión entre los anillos A y B puede ser *cis* o *trans* en esteroides presentes de manera natural. La que hay entre B y C es *trans*, como por lo regular lo es la unión C/D. Los enlaces que fijan grupos sustituyentes por arriba del plano de los anillos (enlaces β) se muestran con líneas continuas y marcadas, mientras que los enlaces que fijan grupos por debajo (enlaces α) se indican con líneas discontinuas. El anillo A de un esteroide 5α siempre es *trans* respecto al anillo B, mientras que es *cis* en un esteroide 5β. Los grupos metilo fijos a C10 y C13 siempre están en la configuración β.

El colesterol es un constituyente importante de muchos tejidos

El colesterol (fig. 15-17) está ampliamente distribuido en todas las células del cuerpo, pero en particular en el tejido nervioso. Es un constituyente de importancia de la membrana plasmática y de las lipoproteínas plasmáticas. A menudo se encuentra como **colesteril éster**, donde el grupo hidroxilo en la posición 3 está esterificado con un ácido graso de cadena larga. Se encuentra en animales, no así en vegetales ni en bacterias.

El ergosterol es un precursor de la vitamina D

El ergosterol se encuentra en plantas y levaduras, y es importante como un precursor de la vitamina D (fig. 15-18). Cuando se irradia con luz ultravioleta, el anillo B se abre para formar vitamina D_2 en un proceso similar al que forma vitamina D_3 a partir del 7-deshidrocolesterol en la piel (fig. 44-3).

FIGURA 15-16 Núcleo esteroide generalizado, que muestra **(A)** una configuración todo-*trans* entre anillos adyacentes y **(B)** una configuración *cis* entre anillos A y B.

$$-CH=C(CH_3)-CH=CH-$$

FIGURA 15-19 Unidad de isopreno.

CH_2OH 16

FIGURA 15-20 Dolicol —un alcohol C95.

Los poliprenoides comparten el mismo compuesto original que el colesterol

Aun cuando no son esteroides, estos compuestos están relacionados porque se sintetizan, al igual que el colesterol (fig. 26-2), a partir de unidades de isopreno de cinco carbonos (fig. 15-19). Incluyen la **ubiquinona** (cap. 13), que participa en la cadena respiratoria en las mitocondrias, y el alcohol de cadena larga **dolicol** (fig. 15-20), que participa en la síntesis de glucoproteína al transferir residuos carbohidrato hacia residuos asparagina del polipéptido (cap. 47). Los compuestos isoprenoide derivados de vegetales comprenden caucho, alcanfor, las vitaminas liposolubles A, D, E y K, y β-caroteno (provitamina A).

LA PEROXIDACIÓN LÍPIDA ES UNA FUENTE DE RADICALES LIBRES

La peroxidación **(autooxidación)** de lípidos expuestos a oxígeno no sólo causa deterioro de alimentos **(rancidez)** sino que también daña tejidos *in vivo*, y puede ser una causa de cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis y envejecimiento. Se considera que los efectos nocivos se originan por **radicales libres** ($ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, $OH^{\bullet}$) producidos en el transcurso de la formación de peróxido a partir de ácidos grasos que contienen dobles enlaces interrumpidos por metileno, esto es, los que se encuentran en los ácidos grasos poliinsaturados que existen de modo natural (fig. 15-21). La peroxidación lípida es una reacción en cadena que proporciona un aporte continuo de radicales libres que inician peroxidación adicional y, así, tienen efectos en potencia devastadores. El proceso entero puede describirse como sigue:

1. Iniciación:

$$ROOH + Metal^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + Metal^{(n-1)+} + H^{+}$$
$$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$$

2. Propagación:

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$
$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}, \text{etc.}$$

3. Terminación:

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$$
$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$$
$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$$

Para controlar la peroxidación lípida y reducirla, tanto los seres humanos en sus actividades, como la Naturaleza, recurren al uso de **antioxidantes**. El propil galato, el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT) son antioxidantes que se usan como aditivos de alimentos. Los antioxidantes naturales incluyen vitamina E (tocoferol), que es liposoluble, y urato y vitamina C, que son hidrosolubles. El β-caroteno es un antioxidante a PO_2 baja. Los antioxidantes caen dentro de dos clases: 1) antioxidantes preventivos, que reducen el índice de iniciación de cadena oxidativa, y 2) antioxidantes que rompen la cadena oxidativa, que interfieren con la propagación de dicha cadena. Los antioxidantes preventivos comprenden la catalasa y otras peroxidasas, como la glutatión peroxidasa (fig. 21-3), que reaccionan con ROOH; selenio, un componente esencial de la glutatión peroxidasa y que regula su actividad, y quelantes de iones metálicos, como EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) y DTPA (ácido dietilentriaminopentaacético). *In vivo*, los principales antioxidantes que rompen la cadena oxidativa son la superóxido dismutasa, que actúa en la fase acuosa para atrapar radicales libres su-

RH X• XH R• R• H O₂ ROO• H O—O• H H H RH O O H H O—O H OOH +R•
Malondialdehído Endoperóxido Hidroperóxido ROOH

FIGURA 15-21 Peroxidación lípida. La reacción se inicia por un radical libre existente ($X^{\bullet}$), por luz o por iones metálicos. El malondialdehído sólo se forma a partir de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, y se usa como una medida de peroxidación lipídica junto con etano proveniente de los dos carbonos terminales de ácidos grasos ω3 y pentano de los cinco carbonos terminales de ácidos grasos ω6.

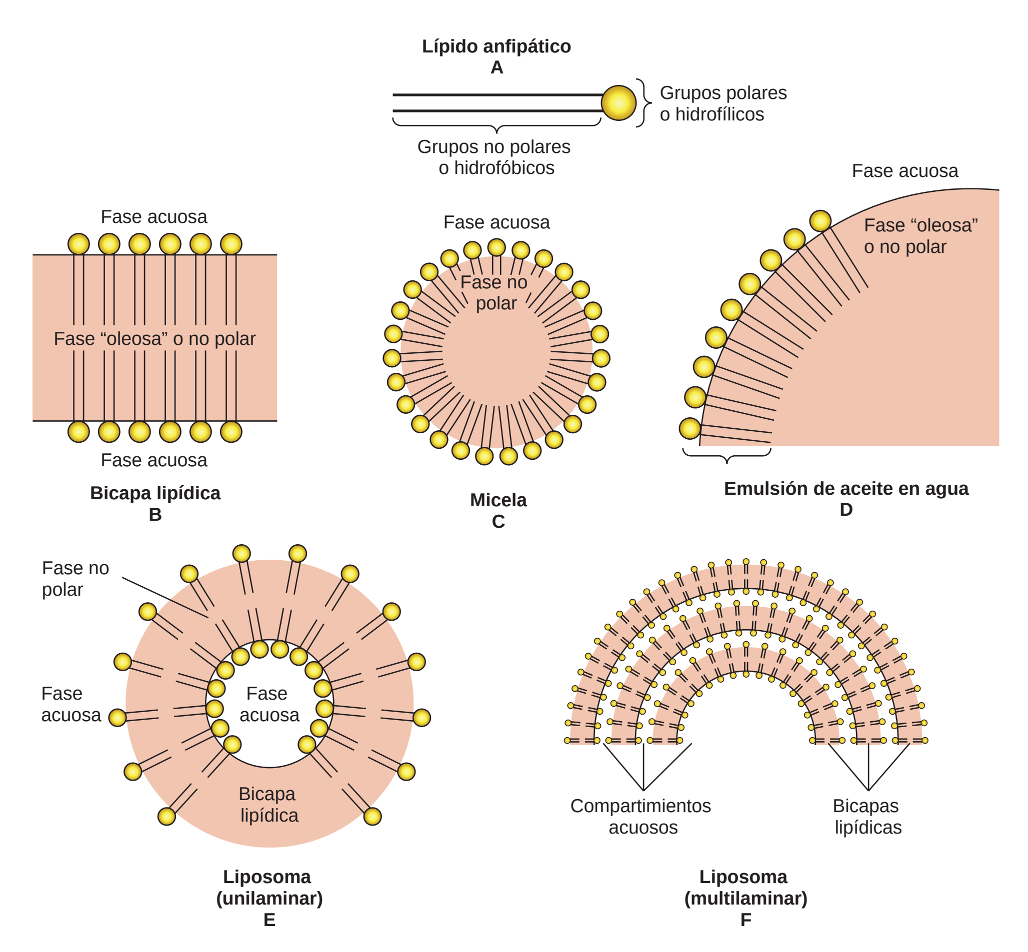


FIGURA 15-22 Formación de membranas lipídicas, micelas, emulsiones y liposomas a partir de lípidos anfipáticos, por ejemplo, fosfolípidos.

peróxido ($O_2^{-\cdot}$) urato y vitamina E, que actúa en la fase líquida para atrapar los radicales ROO$^\cdot$ (fig. 44-6).

La peroxidación también es catalizada *in vivo* por compuestos hem y por **lipooxigenasas** que se encuentran en plaquetas y leucocitos. Otros productos de autooxidación u oxidación enzimática de importancia fisiológica incluyen **oxiesteroles** (formados a partir del colesterol) e **isoprostanos** (formados a partir de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados, como el ácido araquidónico).

LOS LÍPIDOS ANFIPÁTICOS SE ORIENTAN POR SÍ MISMOS EN INTERFASES DE ACEITE:AGUA

Forman membranas, micelas, liposomas y emulsiones

En general, los lípidos son insolubles en agua porque contienen un predominio de grupos no polares (hidrocarbonos). Sin embargo, los ácidos grasos, los fosfolípidos, los esfingolípidos, las sales biliares y, en menor grado, el colesterol, contienen grupos polares. En consecuencia, parte de la molécula es **hidrofóbica**, o insoluble en agua, y parte **hidrofílica**, o soluble en agua. Tales moléculas se describen como **anfipáticas** (fig. 15-22); se orientan en interfases de aceite: agua con el grupo polar en la fase acuosa y el grupo no polar en la fase oleosa. Una bicapa de ese tipo de lípidos anfipáticos es la estructura básica en **membranas** biológicas (cap. 40). Cuando hay una concentración crítica de estos lípidos en un medio acuoso, forman **micelas**. Los **liposomas** pueden formarse sometiendo a ultrasonido un lípido anfipático en un medio acuoso. Constan de esferas de bicapas lipídicas que encierran parte del medio acuoso. Las agregaciones de sales biliares hacia micelas y liposomas, y la formación de micelas mixtas con los productos de la digestión de grasas tienen importancia en la facilitación de la absorción de lípidos en el intestino. Los liposomas tienen uso clínico potencial —en particular cuando se combinan con anticuerpos específicos para tejido— como acarreadores de fármacos en la circulación, y dirigidos hacia órganos específicos, por ejemplo, en la terapia para el cáncer. Además, se usan para transferencia genética hacia células vasculares, y como acarreadores para el aporte tópico y transdérmico de medicamentos y cosméticos. Las **emulsiones** son partículas de tamaño mucho mayor —por lo general, formadas por lípidos no polares en un medio acuoso— y se estabilizan por medio de agentes emulsificantes, como lípidos anfipáticos (p. ej., lecitina), que forman una capa superficial que separa la masa principal del material no polar de la fase acuosa (fig. 15-22).

RESUMEN

- Los lípidos tienen la propiedad común de ser relativamente insolubles en agua (hidrofóbicos) pero solubles en solventes no polares. Los lípidos anfipáticos también contienen uno o más grupos polares, lo que hace que sean idóneos como constituyentes de membranas en interfases entre lípido y agua.
- Los lípidos de gran importancia fisiológica son los ácidos grasos y sus ésteres, junto con el colesterol y otros esteroides.
- Los ácidos grasos de cadena larga pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturados, de acuerdo con el número de dobles enlaces presentes. Su fluidez se aminora con la longitud de la cadena, y aumenta de acuerdo con el grado de insaturación.
- Los eicosanoides se forman a partir de ácidos grasos poliinsaturados de 20 carbonos, y constituyen un importante grupo de compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica, conocidos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas.
- Los ésteres de glicerol son los lípidos de mayor importancia en el aspecto cuantitativo, representados por el triacilglicerol ("grasa"), un constituyente importante de lipoproteínas, y del almacén de lípidos en el tejido adiposo. Los fosfoacilgliceroles son lípidos anfipáticos, y tienen funciones importantes: como constituyentes principales de membranas y la capa externa de lipoproteínas, como surfactantes en los pulmones, como precursores de segundos mensajeros, y como constituyentes del tejido nervioso.
- Los glucolípidos también son constituyentes importantes del tejido nervioso, como el cerebro y la cara externa de la membrana celular, donde contribuyen a los carbohidratos sobre la superficie de la célula.
- El colesterol, un lípido anfipático, es un componente de importancia de las membranas. Es la molécula original a partir de la cual se sintetizan todos los otros esteroides en el cuerpo, incluso hormonas importantes como las hormonas adrenocorticales y sexuales, vitaminas D y ácidos biliares.
- La peroxidación de lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados lleva a la generación de radicales libres que dañan tejidos y causan enfermedad.

REFERENCIAS

Benzie IFF: Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. Int J Food Sci Nutr 1996;47:233.

Christie WW: *Lipid Analysis,* 3rd ed. The Oily Press, 2003.

Dowhan W, Bodanov H: Functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002.

Gurr MI: *Lipids in Nutrition and Health: A Reappraisal.* The Oily Press, 1999.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry.* Blackwell Publishing, 2002.

CAPÍTULO

16

Perspectiva general del metabolismo y el suministro de combustibles metabólicos

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

"Metabolismo" es el término que se usa para describir la interconversión de compuestos químicos en el cuerpo, las vías que siguen moléculas individuales, sus interrelaciones, y los mecanismos que regulan el flujo de metabolitos a través de las vías. Las vías metabólicas se clasifican en tres categorías: 1) **vías anabólicas**, que son las implicadas en la síntesis de compuestos de mayor tamaño y más complejos a partir de precursores de menor tamaño, por ejemplo, la síntesis de proteína a partir de aminoácidos, y la síntesis de reservas de triacilglicerol y glucógeno. Las vías anabólicas son endotérmicas. 2) **Vías catabólicas**, que están involucradas en la degradación de moléculas de mayor tamaño; por lo general implican reacciones oxidativas; son exotérmicas; dan por resultado equivalentes reductores y, principalmente por medio de la cadena respiratoria, ATP. 3) **Vías anfibólicas**, que se presentan en las "encrucijadas" del metabolismo, y actúan como enlaces entre las vías anabólicas y catabólicas, por ejemplo, el ciclo del ácido cítrico.

El conocimiento del metabolismo normal es esencial para entender las anormalidades que fundamentan la enfermedad. El metabolismo normal incluye adaptación a periodos de inanición, ejercicio, embarazo y lactancia. El metabolismo anormal puede producirse por de ciencia nutricional, de ciencia de enzimas, secreción anormal de hormonas, o las acciones de fármacos y toxinas.

Un ser humano adulto de 70 kg requiere alrededor de 8 a 12 MJ (1 920 a 2 900 kcal) provenientes de combustibles metabólicos cada día, según su actividad física. Los animales de mayor tamaño necesitan menos y los animales de menor tamaño más, por kilogramo de peso corporal, y los niños y animales en crecimiento tienen un requerimiento proporcionalmente mayor debido al costo de energía del crecimiento. Para seres humanos este requerimiento se satisface a partir de carbohidratos (40 a 60%), lípidos (sobre todo triacilglicerol, 30 a 40%) y proteína (10 a 15%), así como alcohol. La mezcla de carbohidratos, lípidos y proteínas que se está oxidando varía, según si el sujeto se encuentra en el estado alimentado o de ayuno, y de la duración y la intensidad del trabajo físico.

El requerimiento de combustibles metabólicos es relativamente constante durante todo el día, dado que la actividad física promedio sólo aumenta la tasa metabólica alrededor de 40 a 50% sobre el basal. Sin embargo, la mayoría de las personas consume en dos o tres comidas su ingestión diaria de combustibles metabólicos, de modo que hay una necesidad de almacenar carbohidratos (glucógeno en el hígado y en los músculos) y lípidos (triacilglicerol en el tejido adiposo) durante el periodo que sigue a una comida, para uso durante el tiempo intermedio cuando no hay ingestión de alimento.

Si la ingestión de combustibles metabólicos es constantemente mayor que el gasto de energía, el excedente se almacena, en su mayor parte como triacilglicerol en el tejido adiposo, lo que conduce a **obesidad** y a los peligros para la salud que conlleva. En contraste, si la ingestión de combustibles metabólicos es constantemente menor que el gasto de energía, las reservas de grasas y carbohidratos son insignificantes, y se usan aminoácidos que surgen a partir del recambio de proteína, para metabolismo que origina energía más que para remplazar la síntesis de proteínas, lo que da pie a **emaciación**, **consunción** y la muerte (cap. 43).

En el estado posprandial, después de una comida, hay un amplio aporte de carbohidratos, y el combustible metabólico para casi todos los tejidos es la glucosa. En el estado de ayuno, es necesario reservar la glucosa para uso por el sistema nervioso central (que depende en su mayor parte de glucosa) y los eritrocitos (que dependen por completo de la glucosa). De modo que los tejidos que pueden usar otros combustibles distintos a la glucosa, lo hacen; el músculo y el hígado oxidan ácidos grasos, y el hígado sintetiza cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos para exportarlos hacia los músculos y otros tejidos. Conforme se agotan las reservas de glucógeno, se usan para **gluconeogénesis** aminoácidos que proceden del recambio de proteína.

La formación y utilización de reservas de triacilglicerol y glucógeno, y el grado al cual los tejidos captan y oxidan glucosa, están controlados en su mayor parte por las hormonas **insulina** y **glucagon**. En la **diabetes mellitus** hay síntesis y secreción alteradas de insulina (diabetes de inicio juvenil, o tipo 1) o sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina (diabetes de inicio en el adulto, o tipo 2), lo que lleva a alteración metabólica grave. En el ganado vacuno, las demandas de lactancias intensas pueden llevar a cetosis, al igual que las demandas que plantea una gestación gemelar en ovejas.

VÍAS QUE PROCESAN LOS PRINCIPALES PRODUCTOS DE LA DIGESTIÓN

La naturaleza de la dieta establece el modelo básico de metabolismo. Hay una necesidad de procesar los productos de la digestión de carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta, se trata en particular de glucosa, ácidos grasos y glicerol, y aminoácidos, respectivamente. En rumiantes (y, un tanto menos, en otros herbívoros) los microorganismos simbióticos fermentan la celulosa de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta (acético, propiónico, butírico), y en estos

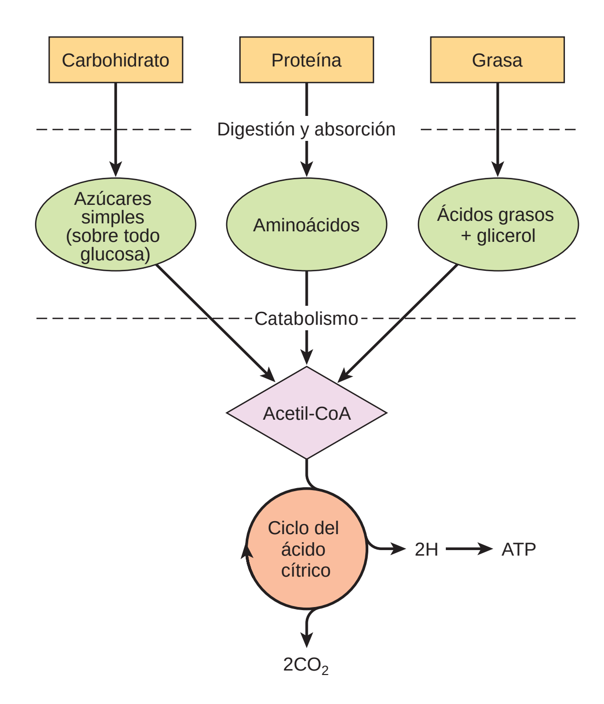


FIGURA 16-1 Resumen de las vías para el catabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas de la dieta. Todas las vías llevan a la producción de acetil-CoA, que se oxida en el ciclo del ácido cítrico y al final produce ATP mediante el proceso de fosforilación oxidativa.

animales el metabolismo está adaptado para emplear estos ácidos grasos como los principales sustratos. Todos los productos de la digestión se metabolizan hacia un **producto común**, **la acetil-CoA**, que luego se oxida mediante el **ciclo del ácido cítrico** (fig. 16-1).

El metabolismo de los carbohidratos se centra en el suministro de glucosa y el destino de la misma

La glucosa es el principal combustible de casi todos los tejidos (fig. 16-2). Se metaboliza hacia piruvato por la vía de la **glucólisis**. Los tejidos aeróbicos metabolizan el piruvato hacia **acetil-CoA**, que puede entrar al ciclo del ácido cítrico para oxidación completa hacia CO_2 y H_2O, enlazada a la formación de ATP en el proceso de **fosforilación oxidativa** (fig. 13-2). La glucólisis también puede ocurrir de manera anaeróbica (en ausencia de oxígeno) cuando el producto terminal es lactato.

La glucosa y sus metabolitos también participan en otros procesos: 1) la síntesis del polímero de almacenamiento **glucógeno** en el músculo esquelético y el hígado. 2) La **vía de la pentosa fosfato**, una alternativa para parte de las vías de la glucólisis. Es una fuente de equivalentes reductores (NADPH) para la síntesis de ácido graso, y la fuente de **ribosa** para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico. 3) Los triosa fosfatos dan lugar a la **porción glicerol** de los triacilgliceroles. 4) El piruvato y los intermediarios del ciclo del ácido cítrico proporcionan los esqueletos de carbono para la síntesis de **aminoácidos**, y la acetil-CoA es el precursor de **ácidos grasos** y **colesterol** (y, por ende, de todos los esteroides sintetizados en el cuerpo). La **gluconeogénesis** es el proceso de formación de glucosa a partir de precursores no carbohidratos, por ejemplo, lactato, aminoácidos y glicerol.

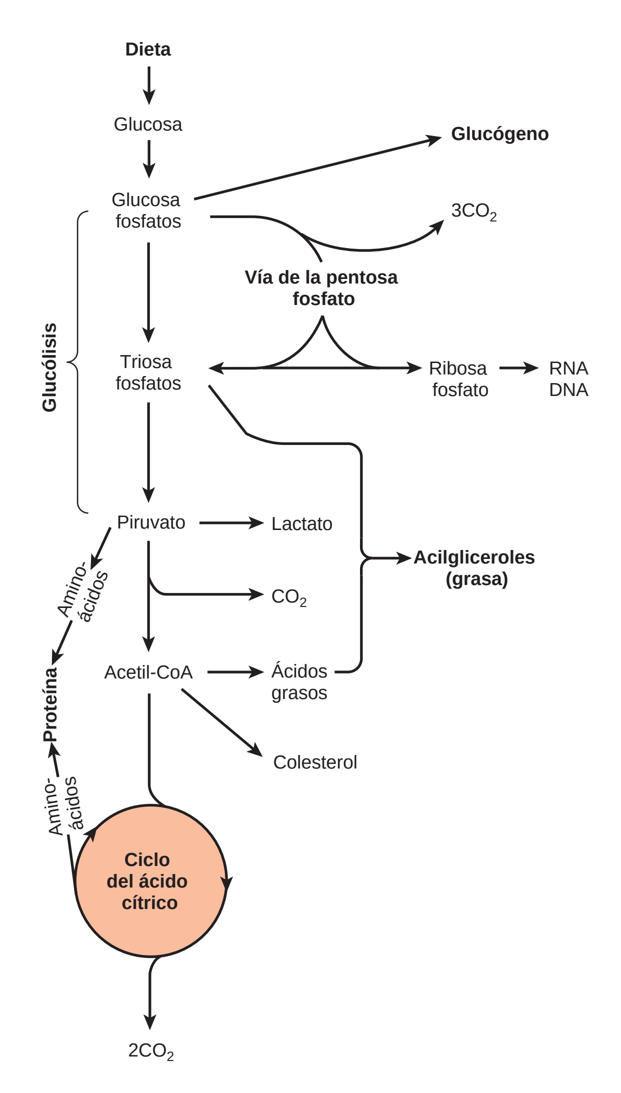


FIGURA 16-2 Perspectiva general del metabolismo de los carbohidratos, que muestra las principales vías y productos terminales. No se muestra la gluconeogénesis.

El metabolismo de los lípidos se relaciona principalmente con ácidos grasos y colesterol

La fuente de ácidos grasos de cadena larga son los lípidos de la dieta o la síntesis *de novo* a partir de acetil-CoA derivada de carbohidratos o aminoácidos. Los ácidos grasos se pueden oxidar hacia **acetil-CoA (β-oxidación)** o esterificar con glicerol, lo que forma **triacilglicerol** (grasa) como la principal reserva de combustible del cuerpo.

La acetil-CoA formada mediante β-oxidación puede tener tres destinos (g. 16-3).

1. Al igual que con la acetil-CoA que se origina a partir de la glucólisis, se **oxida** hacia $CO_2 + H_2O$ por medio del ciclo del ácido cítrico.
2. Es el precursor para la síntesis de **colesterol** y otros **esteroides**.
3. En el hígado se usa para formar **cuerpos cetónicos** (acetoacetato y 3-hidroxibutirato) que son combustibles importantes en el ayuno prolongado.

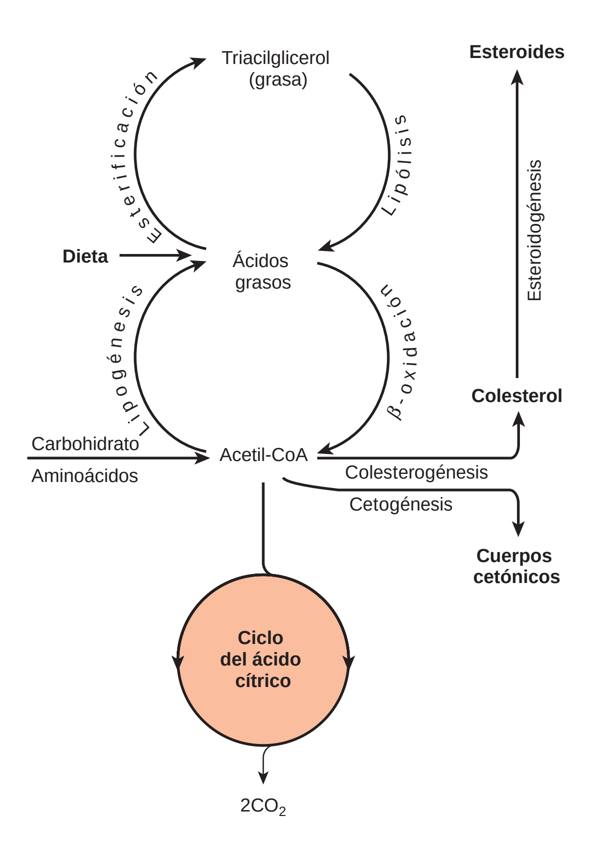


FIGURA 16-3 Perspectiva general del metabolismo de los ácidos grasos, que muestra las principales vías y productos terminales. Los cuerpos cetónicos son acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona.

Gran parte del metabolismo de aminoácidos involucra transaminación

Los aminoácidos son necesarios para efectuar la síntesis de proteína (fig. 16-4). Algunos deben suministrarse en la dieta (los **aminoácidos esenciales**), porque no se pueden sintetizar en el organismo. El resto son **aminoácidos no esenciales**, que provienen de la dieta, pero también pueden formarse a partir de intermediarios metabólicos mediante **transaminación** usando el nitrógeno amino de otros aminoácidos. Después de **desaminación**, el nitrógeno amino se excreta como **urea**, y los esqueletos de carbono que permanecen luego de transaminación pueden: 1) oxidarse hacia CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, 2) usarse para sintetizar glucosa (gluconeogénesis) o 3) formar cuerpos cetónicos, que pueden ser oxidados o emplearse para la síntesis de ácidos grasos.

Varios aminoácidos también son los precursores de otros compuestos, por ejemplo, purinas, pirimidinas, hormonas como epinefrina y tiroxina, y neurotransmisores.

LAS VÍAS METABÓLICAS PUEDEN ESTUDIARSE A DIFERENTES NIVELES DE ORGANIZACIÓN

Además de estudios en el organismo entero, la localización e integración de vías metabólicas se revela mediante estudios a varios niveles de organización. 1) En el **nivel de tejido y órgano**, se define la naturaleza de los sustratos que entran a ellos, y de los metabolitos que salen de los mismos. 2) En el **nivel subcelular** cada organelo (p. ej., la mitocondria) o compartimiento (p. ej., el citosol) celular tiene

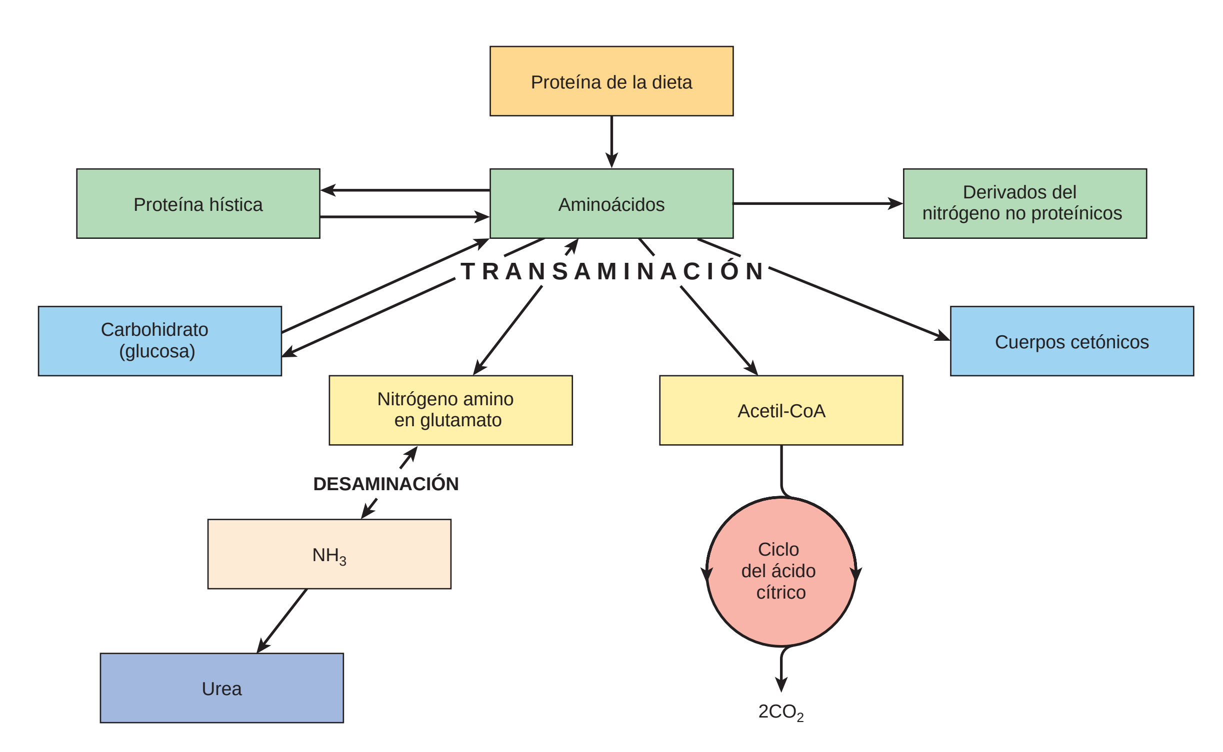


FIGURA 16-4 Perspectiva general del metabolismo de aminoácidos que muestra las principales vías y productos terminales.

funciones específicas que forman parte de un patrón subcelular de vías metabólicas.

En el nivel de tejido y órgano, la circulación de la sangre integra el metabolismo

Los **aminoácidos** generados por la digestión de proteína de la dieta y la **glucosa** producida por la digestión de carbohidratos, se absorben por medio de la vena porta hepática. El hígado tiene la función de regular la concentración sanguínea de metabolitos hidrosolubles (g. 16-5). En el caso de la glucosa, esto se logra al captar la que excede los requerimientos inmediatos, y convertirla en glucógeno (**glucogénesis**, cap. 19) o en ácidos grasos (**lipogénesis**, cap. 23). Entre las comidas, el hígado actúa para mantener las cifras sanguíneas de glucosa al degradar glucógeno (**glucogenólisis**, cap. 19) y, junto con los riñones, al convertir metabolitos no carbohidrato, como lactato, glicerol y aminoácidos, en glucosa (**gluconeogénesis**, cap. 20). El mantenimiento de una concentración adecuada de glucosa en la sangre es vital para los tejidos en los cuales es el principal combustible (el cerebro) o el único combustible (los eritrocitos). El hígado también **sintetiza las principales proteínas plasmáticas** (p. ej., albúmina) y **desamina aminoácidos** que exceden los requerimientos, formando urea, que es transportada hacia los riñones y excretada (cap. 28).

El **músculo esquelético** utiliza glucosa como combustible, de modo tanto aeróbico, formando CO_2, como anaeróbico, formando lactato. Almacena glucógeno como un combustible para uso en la contracción muscular, y sintetiza proteína muscular a partir de aminoácidos plasmáticos. El músculo conforma alrededor de 50% de la masa corporal y, por consiguiente, representa una considerable reserva de proteína a la cual puede recurrirse para aportar aminoácidos para gluconeogénesis en la inanición (cap. 20).

Los **lípidos** en la dieta (g. 16-6) son sobre todo triacilglicerol, y se hidrolizan hacia monoacilgliceroles y ácidos grasos en el intestino, y después se vuelven a esteri car en la mucosa intestinal. Ahí son empacados con proteína y secretados hacia el sistema linfático y, desde allí, hacia el torrente sanguíneo como **quilomicrones**, las **lipoproteínas** plasmáticas de mayor tamaño; éstos también contienen otros nutrientes liposolubles. A diferencia de la glucosa y los aminoácidos, el hígado no capta de manera directa los triacilgliceroles de los quilomicrones. Primero los quilomicrones se metabolizan en los tejidos que tienen **lipoproteína lipasa**, que hidroliza el triacilglicerol, lo que libera ácidos grasos que se incorporan hacia lípidos hísticos o se oxidan como combustible. El hígado elimina los remanentes de quilomicrón. La otra fuente principal de ácidos grasos de cadena larga es la síntesis **(lipogénesis)** a partir de carbohidrato, en el tejido adiposo y en el hígado.

El triacilglicerol del tejido adiposo es la principal reserva de combustible del cuerpo. Se hidroliza **(lipólisis)** y se liberan glicerol y ácidos grasos libres hacia la circulación. El glicerol es un sustrato para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos son transportados unidos a albúmina sérica; son captados por casi todos los tejidos (aunque no por el cerebro o los eritrocitos), y se esteri can hacia triacilgliceroles para almacenamiento o se oxidan como un combustible. En el hígado, el triacilglicerol que surge

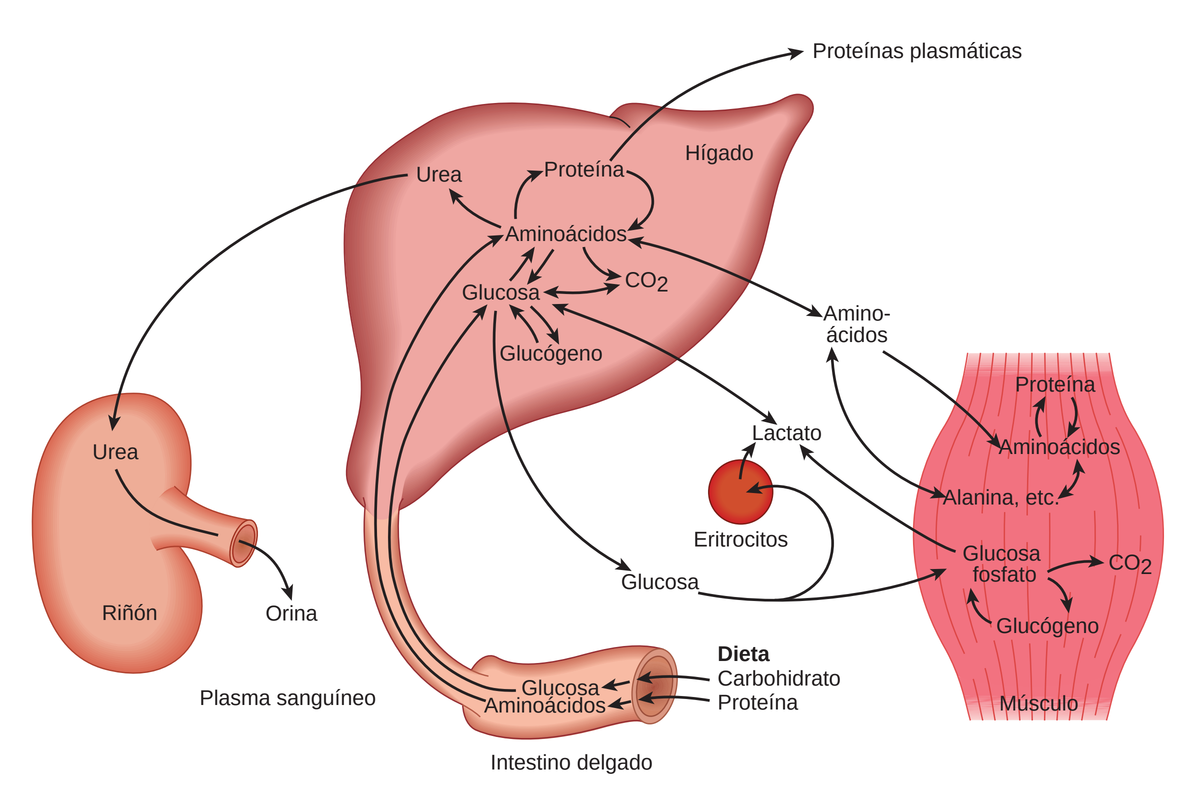


FIGURA 16-5 Transporte y destino de los sustratos y metabolitos carbohidratos y aminoácidos principales. Note que hay poca glucosa libre en el músculo, pues se fosforila con rapidez en el momento de la entrada.

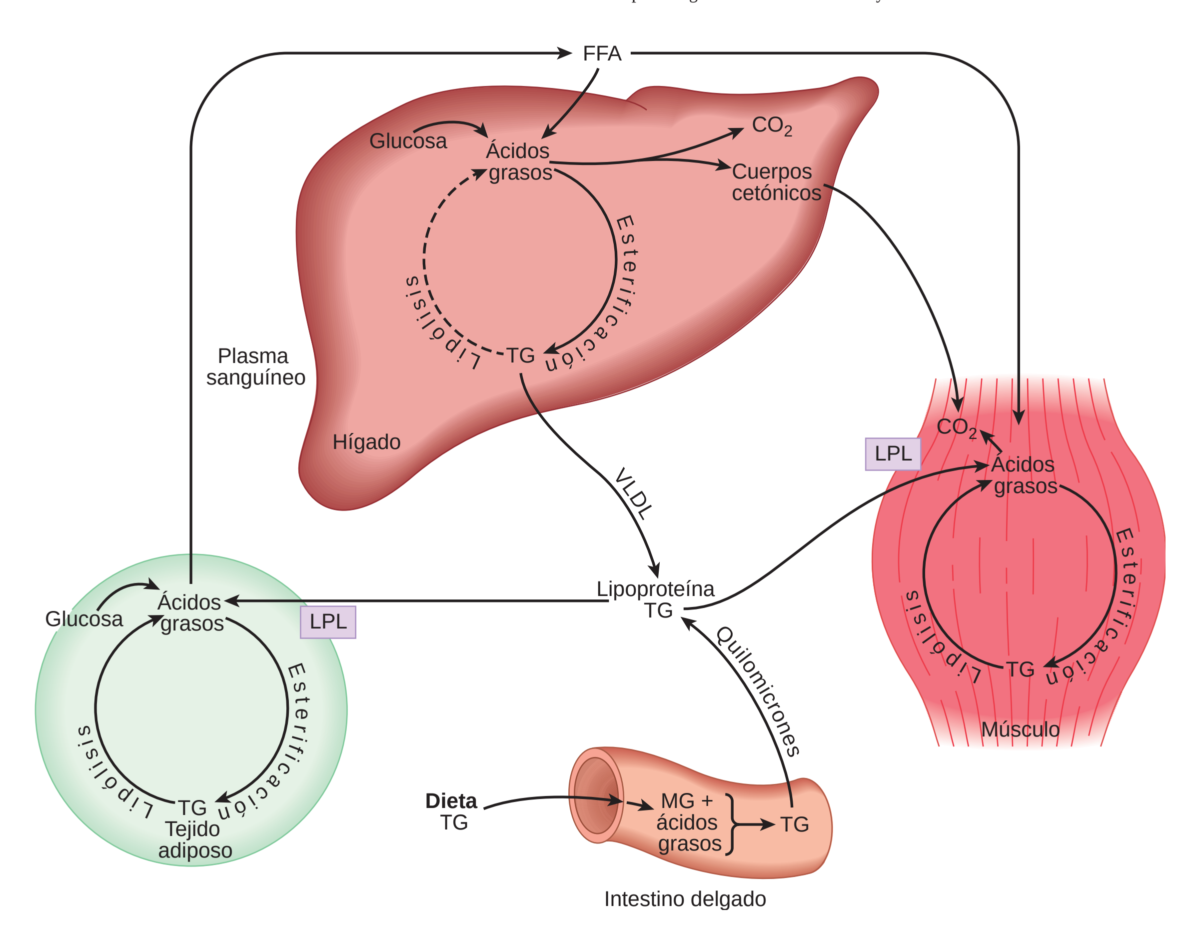


FIGURA 16-6 Transporte y destino de sustratos y metabolitos lípidos principales. (FFA, ácidos grasos libres; LPL, lipoproteína lipasa; MG, monoacilglicerol; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.)

a partir de la lipogénesis, ácidos grasos libres y remanentes de quilomicrón (g. 25-3) se secreta hacia la circulación en **lipoproteína de muy baja densidad** (**VLDL**, del inglés *very low density lipoprotein*), dicho triacilglicerol tiene un destino similar al de los quilomicrones. La oxidación parcial de ácidos grasos en el hígado conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** (**cetogénesis**, cap. 22), que se transportan hacia tejidos extrahepáticos, donde actúan como un combustible en el ayuno y la inanición prolongados.

En el nivel subcelular, la glucólisis ocurre en el citosol, y el ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias

La compartamentalización de vías en compartimientos subcelulares u organelos separados permite la integración y regulación del metabolismo. No todas las vías tienen igual importancia en todas las células. En la figura 16-7 se describe la compartamentalización subcelular de vías metabólicas en una célula del parénquima hepático.

La principal función de la **mitocondria** queda de mani esto de inmediato, porque actúa como el foco del metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos. Contiene las enzimas del ciclo del ácido cítrico (cap. 17), la β-oxidación de ácidos grasos y la cetogénesis (cap. 22), así como la cadena respiratoria y la ATP sintasa (cap. 13).

La glucólisis (cap. 18), la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) y la síntesis de ácidos grasos (cap. 23) ocurren en el citosol. En la gluconeogénesis (cap. 20), los sustratos como lactato y piruvato, que se forman en el citosol, entran en la mitocondria y dan **oxaloacetato** como un precursor para la síntesis de glucosa en el citosol.

Las membranas del **retículo endoplásmico** contienen el sistema de enzimas para la **síntesis de triacilglicerol** (cap. 24), y los **ribosomas** se encargan de la **síntesis de proteína** (cap. 37).

EL FLUJO DE METABOLITOS A TRAVÉS DE VÍAS METABÓLICAS DEBE REGULARSE DE UN MODO CONCERTADO

La regulación del flujo general a través de una vía es importante para asegurar un aporte apropiado de los productos de esa vía. Se logra por medio del control de una o más reacciones clave en la vía, catalizadas por las **enzimas reguladoras**. Los factores físico-químicos que controlan la velocidad de una reacción catalizada por la enzima, como las concentraciones de sustrato, tienen importancia primaria en el control de la velocidad general de una vía metabólica (cap. 9).

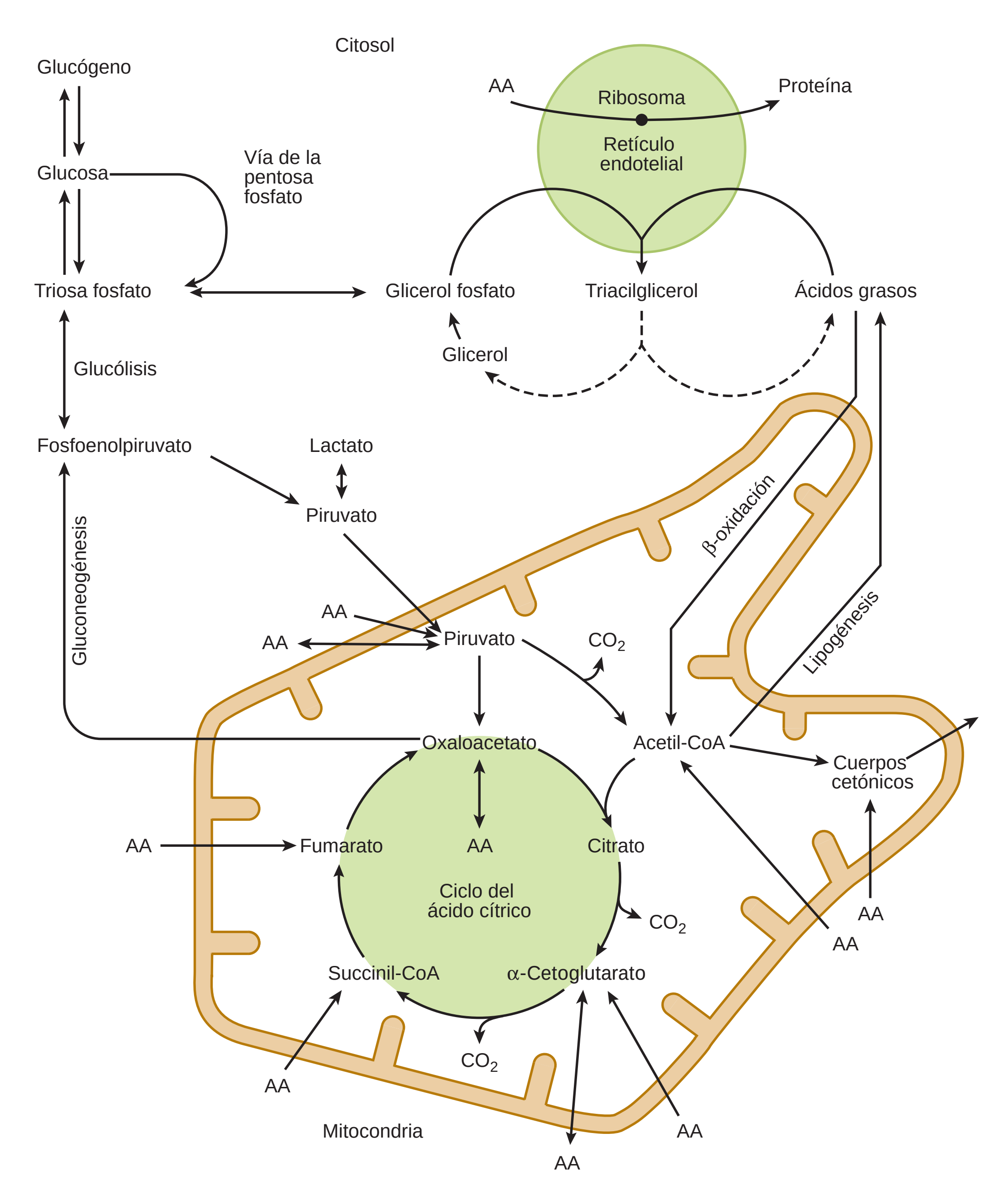


FIGURA 16-7 Localización intracelular y perspectiva general de vías metabólicas principales en una célula parenquimatosa del hígado. (AA →, metabolismo de uno o más aminoácidos esenciales; AA ↔, metabolismo de uno o más aminoácidos no esenciales.)

Las reacciones no en equilibrio son puntos de control potenciales

En una reacción en equilibrio, las reacciones hacia adelante e inversas suceden a velocidades iguales y, por tanto, no hay flujo neto en una u otra dirección.

$$A \leftrightarrow B \leftrightarrow C \leftrightarrow D$$

In vivo, en condiciones de "estado estable", hay flujo neto de izquierda a derecha porque hay aporte de A y eliminación de D, continuos. En la práctica, siempre hay una o más reacciones **no en equilibrio** en una vía metabólica, donde los reactivos están presentes en concentraciones que están lejos del equilibrio. Al intentar alcanzar el equilibrio, se pierden grandes cantidades de energía libre, lo que hace que este tipo de reacción sea en esencia irreversible.

$$A \leftrightarrow B \overset{\text{Calor}}{\rightarrow} C \leftrightarrow D$$

Ese tipo de vía tiene tanto ujo como dirección. Las enzimas que catalizan reacciones no en equilibrio por general están presentes en cifras bajas, y están sujetas a diversos mecanismos reguladores. Empero, casi ninguna reacción en vías metabólicas puede clasi carse como en equilibrio o no en equilibrio, sino que cae en algún lugar entre ambos extremos.

La reacción generadora de flujo es la primera reacción en una vía que se satura con sustrato

Puede identificarse como una reacción no en equilibrio en la cual la K_m de la enzima es mucho menor que la concentración normal de sustrato. La primera reacción en la glucólisis, catalizada por hexocinasa (fig. 18-2), es un paso generador de flujo de ese tipo porque su K_m para la glucosa de 0.05 mmol/L está bastante por abajo de las cifras normales de glucosa en la sangre de 5 mmol/L.

LOS MECANISMOS ALOSTÉRICOS Y HORMONALES TIENEN IMPORTANCIA EN EL CONTROL METABÓLICO DE REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMA

En la figura 16-8 se muestra una vía metabólica hipotética, en la cual las reacciones A ↔ B y C ↔ D son reacciones en equilibrio y B ↔ C es una reacción no en equilibrio. El flujo por ese tipo de vía puede estar regulado por la disponibilidad de sustrato A. Esto depende de su aporte desde la sangre que, a su vez, depende de la ingestión de alimento o de reacciones clave que liberan sustratos desde reservas en los tejidos hacia el torrente sanguíneo, por ejemplo, glucógeno fosforilasa en el hígado (fig. 19-1) y lipasa sensible a hormona en el tejido adiposo (fig. 25-8). Asimismo, depende del transporte del sustrato A hacia la célula. El flujo también está determinado por la eliminación del producto terminal D y la disponibilidad de cosustratos o cofactores representados por Y y X. Las enzimas que catalizan reacciones no de equilibrio suelen ser proteínas alostéricas sujetas a las acciones rápidas de control por "retroalimentación" o "anteroalimentación" mediante **modificadores alostéricos**, en respuesta inmediata a las necesidades de las células (cap. 9). A menudo, el producto de una vía biosintética inhibe la enzima que cataliza la primera reacción en la vía. Otros mecanismos de control dependen de la acción de **hormonas** que muestran respuesta a las necesidades del cuerpo en conjunto; pueden actuar con rapidez al alterar la actividad de moléculas de enzima existentes, o con lentitud si se altera el índice de síntesis de enzima (cap. 42).

MUCHOS COMBUSTIBLES METABÓLICOS SON INTERCONVERTIBLES

Los carbohidratos que exceden los requerimientos para metabolismo productor de energía inmediato y la formación de reservas de glucógeno en los músculos y el hígado pueden usarse con facilidad para la síntesis de ácidos grasos y, en consecuencia, de triacilglicerol, tanto en el tejido adiposo como en el hígado (desde donde se exporta en lipoproteínas de muy baja densidad). Aún no se dilucida del todo la importancia de la lipogénesis en seres humanos; en países occidentales la grasa en la dieta de las personas proporciona 35 a 45% de la ingestión de energía, mientras que en países menos desarrollados, donde los carbohidratos llegan a proporcionar 60 a 75% del ingreso de energía, la ingestión total de alimento es tan baja que hay poco excedente para la lipogénesis de cualquier modo. Una ingestión alta de grasa inhibe la lipogénesis en el tejido adiposo y el hígado.

No es posible emplear para la síntesis de glucosa a los ácidos grasos (y los cuerpos cetónicos formados a partir de ellos). La reacción de piruvato deshidrogenasa, que forma acetil-CoA, es irreversible, y por cada unidad de dos carbonos proveniente de acetil-CoA que entra al ciclo del ácido cítrico, hay una pérdida de dos átomos de carbono como dióxido de carbono antes de que vuelva a formarse oxaloacetato. Eso signi ca que la acetil-CoA (y, por ende, cualquier sustrato que la produzca) nunca puede usarse para la gluconeogénesis. Los ácidos grasos (relativamente raros) con un número impar de átomos de carbono dan propionil CoA como el producto nal del ciclo de la β-oxidación, y ésta puede ser un sustrato para la gluconeogénesis, como puede serlo el glicerol liberado por medio de la lipólisis de reservas de triacilglicerol en el tejido adiposo.

Casi todos los aminoácidos que exceden los requerimientos para la síntesis de proteína (que surgen a partir de la dieta o a partir del recambio de proteína en los tejidos) dan piruvato, o intermediarios de cuatro y cinco carbonos del ciclo del ácido cítrico (cap. 29). El piruvato se puede carboxilar hacia oxaloacetato, que es el sustrato primario para la gluconeogénesis, y los otros intermediarios del ciclo también dan por resultado un incremento neto de la formación de oxaloacetato, que entonces está disponible para gluconeogénesis. Estos aminoácidos se clasi can como **glucogénicos**. Dos aminoácidos (lisina y leucina) sólo dan acetil-CoA en el momento de la oxidación y, por consiguiente, no pueden emplearse para la gluconeogénesis, y otros cuatro (es decir, fenilalanina, tirosina, triptófano e isoleucina) dan lugar tanto a acetil-CoA como a intermediarios que pueden usarse para gluconeogénesis. Los aminoácidos que dan origen a acetil-CoA se denominan **cetogénicos**, porque en el ayuno y la inanición prolongados gran parte de la acetil-CoA se usa para la síntesis de cuerpos cetónicos en el hígado.

EN LOS ESTADOS TANTO DE ALIMENTACIÓN COMO DE AYUNO SE PROPORCIONA UN APORTE DE COMBUSTIBLES METABÓLICOS

El sistema nervioso central y los eritrocitos siempre necesitan glucosa

Los eritrocitos carecen de mitocondrias y, por tanto, en todo momento dependen por completo de la glucólisis (anaeróbica) y de la vía de la pentosa fosfato. El cerebro puede metabolizar cuerpos cetónicos para satisfacer alrededor de 20% de sus requerimientos de energía; el resto debe suministrarse mediante glucosa. Los cambios metabólicos que suceden en el estado de ayuno y en la inanición son las consecuencias de la necesidad de preservar la glucosa y las reservas limitadas de glucógeno en el hígado y los músculos para uso por el cerebro y los eritrocitos, y de asegurar el suministro de combustibles metabólicos alternativos para otros tejidos. En el embarazo el feto requiere una cantidad importante de glucosa, al igual que la síntesis de lactosa durante la lactancia (fig. 16-9).

En el estado posprandial, se depositan reservas de combustible metabólico

Durante varias horas luego de una comida, mientras se están absorbiendo los productos de la digestión, hay un aporte abundante de

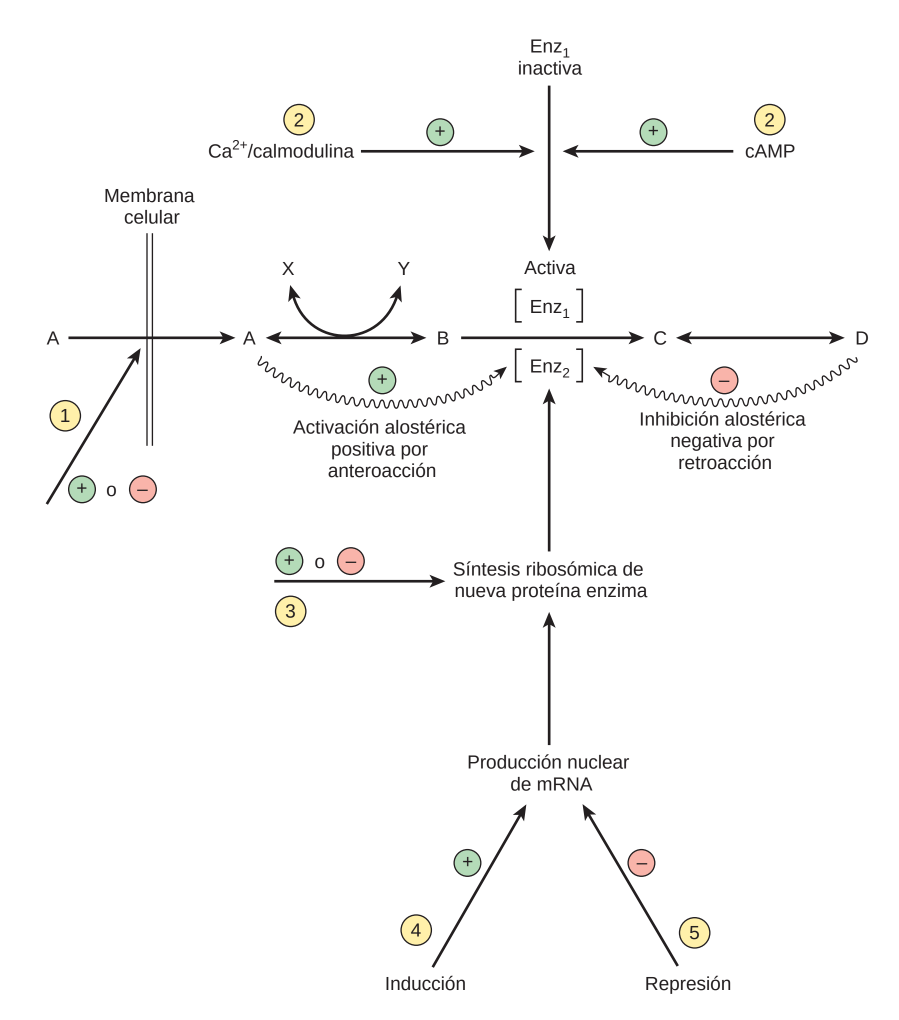


FIGURA 16-8 Mecanismos de control de una reacción catalizada por enzima. Los números encerrados en un círculo indican posibles sitios de acción de hormonas: alteración de la permeabilidad de membrana; conversión de una enzima inactiva en una activa, que por lo regular comprende reacciones de fosforilación/desfosforilación; alteración del índice de traducción del mRNA en el nivel ribosómico; inducción de la formación de mRNA nuevo, y represión de la formación de mRNA. y son vías rápidas, mientras que a son las vías más lentas de regulación de la actividad enzimática.

combustibles metabólicos. En estas condiciones, la glucosa es el principal combustible para la oxidación en casi todos los tejidos; esto se observa como un aumento del cociente respiratorio (la proporción de dióxido de carbono producido/oxígeno consumido) desde alrededor de 0.8 en el estado de ayuno hasta cerca de 1 (cuadro 16-1).

La captación de glucosa hacia el músculo y el tejido adiposo está controlada por la **insulina**, secretada por las células de los islotes β del páncreas en respuesta a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre porta. En el estado de ayuno el transportador de glucosa del músculo y el tejido adiposo (GLUT-4) se encuentra en vesículas intracelulares. Una respuesta temprana a la insulina es la migración de estas vesículas hacia la super cie celular, donde se fusionan con la membrana plasmática, lo que expone transportadores de glucosa activos. Estos tejidos sensibles a insulina sólo captan glucosa a partir del torrente sanguíneo en cualquier grado importante en presencia de la hormona. A medida que la secreción de insulina disminuye en el estado de ayuno, los receptores también se internalizan de nuevo, lo que reduce la captación de glucosa.

La captación de glucosa por el hígado es independiente de la insulina, pero el hígado tiene una isoenzima de la hexocinasa (glucocinasa) con una K_m alta, de modo que conforme aumentan las cifras de glucosa que entran al hígado, también lo hace el índice de síntesis de glucosa-6-fosfato. Esto excede el requerimiento del hígado de metabolismo productor de energía, y se usa principalmente para la síntesis de **glucógeno**. Tanto en el hígado como en el músculo esquelético, la acción de la insulina estimula la glucógeno sintetasa e inhibe la glucógeno fosforilasa. Parte de la glucosa adicional que entra al hígado también puede emplearse para lipogénesis y, en consecuencia, para la síntesis de triacilglicerol. En el tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa, su conversión en ácidos grasos, y su esteri cación hacia triacilglicerol. Inhibe la lipólisis intracelular y la liberación de ácidos grasos libres.

Los productos de la digestión de lípidos entran a la circulación como **quilomicrones**, las lipoproteínas plasmáticas de mayor tamaño, que tienen contenido en especial alto de triacilglicerol (cap. 25). En el tejido adiposo y el músculo esquelético, la lipoproteína lipasa extracelular se sintetiza y activa en respuesta a la insulina; los ácidos grasos no esteri cados resultantes son captados en su mayor parte por el tejido, y se usan para la síntesis de triacilglicerol, mientras que el glicerol permanece en el torrente sanguíneo y es captado por el hígado y usado para gluconeogénesis y síntesis de glucógeno o lipogénesis. El hígado capta los ácidos grasos que permanecen en el torrente sanguíneo, y vuelve a esteri carlos. Dicho órgano elimina los remanentes de quilomicrones que ya tienen los lípidos, y el triacilglicerol restante se exporta, junto con el que se sintetiza en el hígado, en **VLDL**.

En condiciones normales, la velocidad de catabolismo de proteína en los tejidos es más o menos constante durante todo el día; sólo en la **caquexia** que se relaciona con cáncer avanzado y otras enfermedades hay un incremento del índice de catabolismo de proteína. Hay catabolismo neto de proteína en el estado

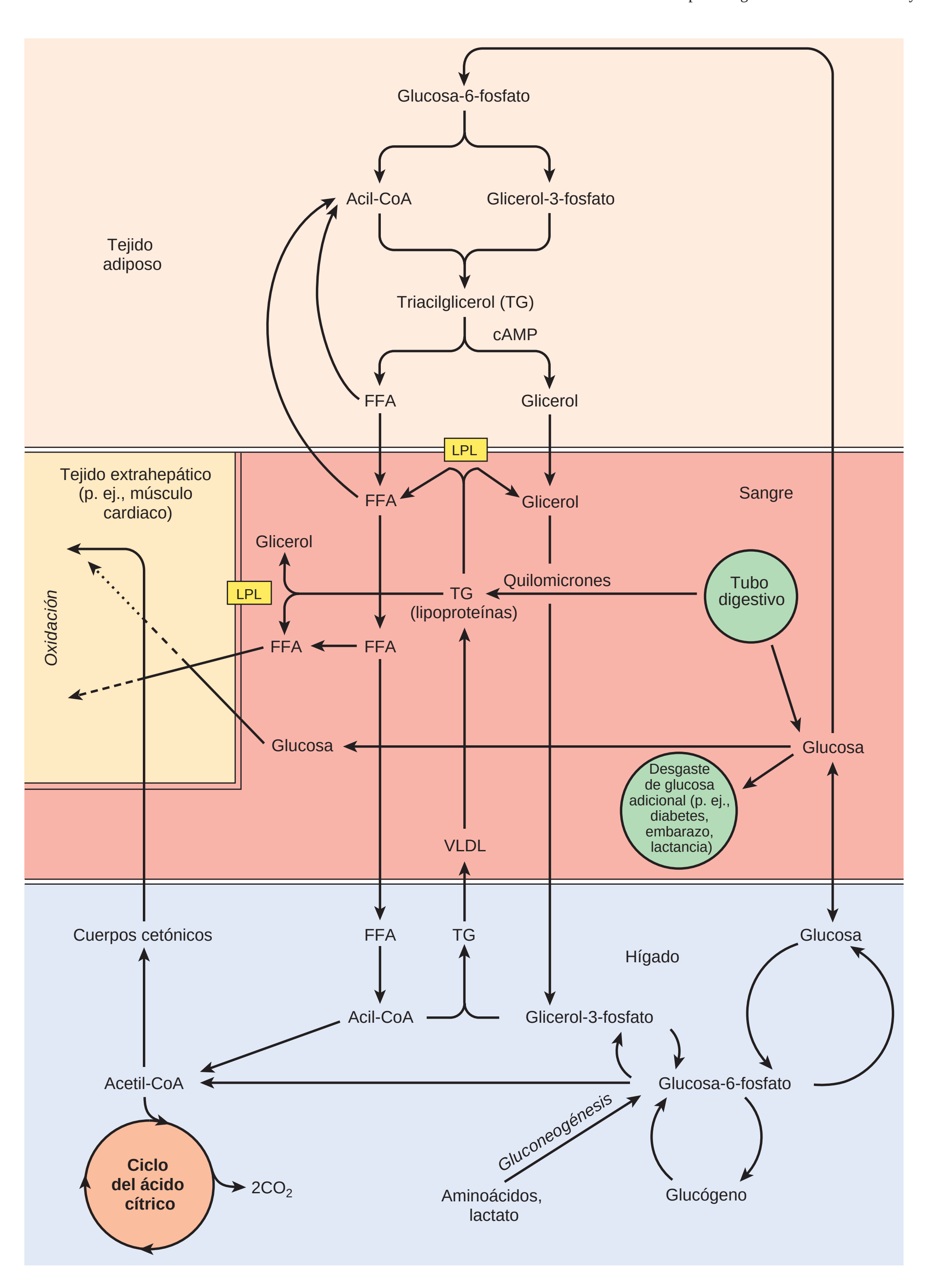


FIGURA 16-9 Interrelaciones metabólicas entre tejido adiposo, hígado y tejidos extrahepáticos. En tejidos como el corazón, los combustibles metabólicos se oxidan en el orden de preferencia que sigue: cuerpos cetónicos > ácidos grasos > glucosa. (LPL, lipoproteína lipasa; FFA, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.)

de ayuno, y síntesis neta de proteínas en el estado posprandial, cuando el índice de síntesis aumenta de 20 a 25%. De nuevo, el incremento de la velocidad de síntesis de proteína en respuesta a aumento de la disponibilidad de aminoácidos y combustible metabólico, es una respuesta a la acción de la insulina. La síntesis de proteína es un proceso con alto costo de energía; puede explicar hasta 20% del gasto de energía en reposo después de una comida, pero sólo 9% en el estado de ayuno.

Las reservas de combustible metabólico se movilizan en el estado de ayuno

En el estado de ayuno hay un pequeño decremento de la glucosa plasmática, y luego poco cambio a medida que el ayuno se prolonga hacia inanición. Los ácidos grasos plasmáticos se incrementan en el ayuno, pero después aumentan poco más en la inanición; conforme se prolonga el ayuno, hay incremento notorio de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (acetoacetato y 3-hidroxibutirato) (cuadro 16-2, fig. 16-10).

En el estado de ayuno, a medida que las cifras de glucosa en la sangre de la porta se aminoran, también lo hace la secreción de insulina, y el músculo esquelético y el tejido adiposo captan menos glucosa. El aumento de la secreción de **glucagon** por las células α del páncreas inhibe la glucógeno sintetasa, y activa la glucógeno fosforilasa en el hígado. La glucosa-6-fosfato resultante es hidrolizada por la glucosa-6-fosfatasa, y se libera glucosa hacia el torrente sanguíneo para uso por el cerebro y los eritrocitos.

CUADRO 16-1 Rendimientos de energía, consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono en la oxidación de combustibles metabólicos

	Rendimiento de energía (kJ/g)	O_2 consumido (L/g)	CO_2 producido (L/g)	RQ (CO_2 producido/O_2 consumido)	Energía (kJ)/L O_2
Carbohidrato	16	0.829	0.829	1.00	20
Proteína	17	0.966	0.782	0.81	20
Grasa	37	2.016	1.427	0.71	20
Alcohol	29	1.429	0.966	0.66	20

CUADRO 16-2 Concentraciones plasmáticas de combustibles metabólicos (mmol/L) en los estados posprandial y de ayuno

	Posprandial	Ayuno de 40 h	7 días de inanición
Glucosa	5.5	3.6	3.5
Ácidos grasos libres	0.30	1.15	1.19
Cuerpos cetónicos	Insignificante	2.9	4.5

El glucógeno muscular no puede contribuir de manera directa a la glucosa plasmática, puesto que el músculo carece de glucosa-6-fosfatasa, y el propósito primario del glucógeno muscular es proporcionar una fuente de glucosa-6-fosfato para metabolismo productor de energía en el músculo mismo. Aun así, la acetil-CoA formada por medio de oxidación de ácidos grasos en el músculo inhibe la piruvato deshidrogenasa, lo que da pie a una acumulación de piruvato; la mayor parte de éste es objeto de transaminación hacia alanina, a expensas de aminoácidos que surgen por desintegración de reservas de proteína "lábiles" sintetizadas en el estado alimentado. La alanina y gran parte de los cetoácidos originados por esta transaminación se exportan desde el músculo y son captados por el hígado, donde la alanina sufre transaminación para producir piruvato. Los aminoácidos resultantes se exportan en su mayor parte de regreso al músculo, para proporcionar grupos amino para la formación de más alanina, mientras que el piruvato es un sustrato importante para gluconeogénesis en el hígado.

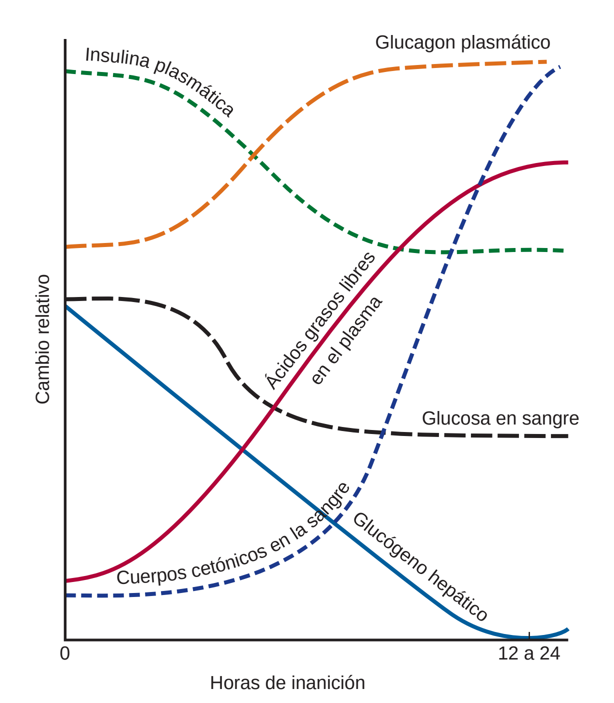


FIGURA 16-10 Cambios relativos de los parámetros metabólicos durante el comienzo de la inanición.

En el tejido adiposo la disminución de insulina y el incremento del glucagon suscitan inhibición de la lipogénesis, desactivación de la lipoproteína lipasa, y activación de lipasa sensible a hormona intracelular (cap. 25). Esto lleva a liberación desde el tejido adiposo de cantidades aumentadas de glicerol (que es un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado) y ácidos grasos libres, que son usados por el hígado, el corazón y el músculo esquelético como su combustible metabólico preferido, lo que, por ende, preserva la glucosa.

Aun cuando el músculo de preferencia capta y metaboliza ácidos grasos libres en el estado de ayuno, no puede satisfacer todos sus requerimientos de energía mediante β-oxidación. En contraste, el hígado tiene una mayor capacidad de β-oxidación que la que se necesita para satisfacer sus propias necesidades de energía, y conforme el ayuno se torna más prolongado, forma más acetil-CoA que la que puede oxidarse. Esta acetil-CoA se usa para sintetizar los **cuerpos cetónicos** (cap. 22), que son importantes combustibles metabólicos para los músculos estriado y cardiaco, y puede satisfacer algunas de las necesidades de energía del cerebro. En la inanición prolongada, la glucosa llega a representar menos de 10% del metabolismo productor de energía de todo el cuerpo.

En ausencia de otra fuente de glucosa, el glucógeno hepático y muscular se agotaría luego de alrededor de 18 h de ayuno. A medida que el ayuno se hace más prolongado, una cantidad cada vez mayor de los aminoácidos que se liberan como resultado del catabolismo de proteína se utiliza en el hígado y los riñones para gluconeogénesis (cuadro 16-3).

ASPECTOS CLÍNICOS

En la inanición prolongada, conforme se agotan las reservas de tejido adiposo, hay un incremento muy considerable del índice neto de catabolismo de proteína para proporcionar aminoácidos, no sólo como sustratos para la gluconeogénesis, sino también como el prin-

CUADRO 16-3 Resumen de las características metabólicas importantes de los principales órganos

Órgano	Principales vías	Principales sustratos	Principales productos exportados	Enzimas especializadas
Hígado	Glucólisis, gluconeogénesis, lipogénesis, β-oxidación, ciclo del ácido cítrico, cetogénesis, metabolismo de lipoproteína, metabolismo de fármacos, síntesis de sales biliares, urea, ácido úrico, colesterol, proteínas plasmáticas	Ácidos grasos libres, glucosa (en el estado posprandial), lactato, glicerol, fructosa, aminoácidos, alcohol	Glucosa, triacilglicerol en VLDL, cuerpos cetónicos, urea, ácido úrico, sales biliares, colesterol, proteínas plasmáticas	Glucocinasa, glucosa-6-fosfatasa, glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa, fructocinasa, arginasa, HMG CoA sintasa, HMG CoA liasa, alcohol deshidrogenasa
Cerebro	Glucólisis, ciclo del ácido cítrico, metabolismo de aminoácidos, síntesis de neurotransmisores	Glucosa, aminoácidos, cuerpos cetónicos en inanición prolongada	Lactato, productos terminales del metabolismo de neurotransmisores	Aquellas que se usan para la síntesis y el catabolismo de neurotransmisores
Corazón	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, ácidos grasos libres, lactato, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL, algo de glucosa	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Tejido adiposo	Lipogénesis, esterificación de ácidos grasos, lipólisis (en ayuno)	Glucosa, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	Ácidos grasos libres, glicerol	Lipoproteína lipasa, lipasa sensible a hormona, enzimas de la vía de la pentosa fosfato
Músculo que se contrae con rapidez	Glucólisis	Glucosa, glucógeno	Lactato (alanina y cetoácidos en ayuno)	—
Músculo que se contrae con lentitud	β-oxidación y ciclo del ácido cítrico	Cuerpos cetónicos, triacilglicerol de quilomicrón y de VLDL	—	Lipoproteína lipasa, cadena de transporte de electrones muy activa
Riñón	Gluconeogénesis	Ácidos grasos libres, lactato, glicerol, glucosa	Glucosa	Glicerol cinasa, fosfoenolpiruvato carboxicinasa
Eritrocitos	Glucólisis anaeróbica, vía de la pentosa fosfato	Glucosa	Lactato	Hemoglobina, enzimas de la vía de la pentosa fosfato

Abreviatura: VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.

cipal combustible metabólico de todos los tejidos. La muerte se produce cuando proteínas hísticas esenciales se catabolizan y no se remplazan. En enfermos con **caquexia** como resultado de la liberación de **citocinas** en respuesta a tumores, y varios otros estados patológicos, hay un aumento del índice de catabolismo de proteína hística, así como incremento considerable del índice metabólico, de modo que se encuentran en estado de inanición avanzada. De nuevo, la muerte sobreviene cuando proteínas hísticas esenciales se catabolizan y no son remplazadas.

La alta demanda de glucosa por el feto, y para la síntesis de lactosa durante la lactancia, puede llevar a cetosis. Esto llega a observarse como cetosis leve con hipoglucemia en seres humanos; en ganado vacuno en lactancia y en ovejas que cursan una gestación gemelar puede haber cetoacidosis muy pronunciada e hipoglucemia profunda.

En la **diabetes mellitus** tipo 1 mal controlada, los pacientes llegan a presentar hiperglucemia, en parte como resultado de falta de insulina para estimular la captación y utilización de glucosa, y en parte porque en ausencia de insulina hay aumento de la gluconeogénesis a partir de aminoácidos en el hígado. Al mismo tiempo, la falta de insulina ocasiona incremento de la lipólisis en el tejido adiposo, y los ácidos grasos libres resultantes son sustratos para la cetogénesis en el hígado.

La utilización de estos cuerpos cetónicos en el músculo (y en otros tejidos) puede estar alterada debido a la falta de oxaloacetato (todos los tejidos tienen un requerimiento de algo de metabolismo de glucosa para mantener una cantidad adecuada de oxaloacetato para la actividad del ciclo del ácido cítrico). En la diabetes no controlada, la cetosis puede ser lo bastante grave como para dar por resultado acidosis **(cetoacidosis)** pronunciada dado que el acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son ácidos relativamente fuertes. El coma resulta tanto por la acidosis como por el aumento considerable de la osmolalidad del líquido extracelular (en particular como resultado de la hiperglucemia).

RESUMEN

- Los productos de la digestión proporcionan a los tejidos los bloques de construcción para la biosíntesis de moléculas complejas y el combustible para impulsar los procesos vivos.
- Casi todos los productos de la digestión de carbohidratos, grasas y proteínas se metabolizan hacia un metabolito común, la acetil-CoA, antes de oxidación hacia CO_2 en el ciclo del ácido cítrico.

- La acetil-CoA también es el precursor para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y esteroides, incluso colesterol y cuerpos cetónicos.
- La glucosa proporciona esqueletos de carbono para el glicerol de triacilgliceroles y aminoácidos no esenciales.
- Los productos de la digestión hidrosolubles se transportan de manera directa hacia el hígado por medio de la vena porta hepática. El hígado regula las concentraciones de glucosa y aminoácidos en sangre.
- Las vías están compartamentalizadas dentro de la célula. La glucólisis, glucogénesis, glucogenólisis, la vía de la pentosa fosfato y la lipogénesis ocurren en el citosol. Las mitocondrias contienen las enzimas del ciclo del ácido cítrico, β-oxidación de ácidos grasos, y la cadena respiratoria y la ATP sintasa. Las membranas del retículo endoplásmico contienen las enzimas para varios otros procesos, entre ellos la síntesis de triacilglicerol y el metabolismo de fármacos.
- Las vías metabólicas están reguladas por mecanismos rápidos que afectan la actividad de las enzimas existentes, esto es, modi cación alostérica y covalente (a menudo en respuesta a la acción de hormona), y mecanismos lentos que afectan la síntesis de enzimas.
- Los carbohidratos y aminoácidos de la dieta que exceden los requerimientos pueden usarse para la síntesis de ácidos grasos y, por consiguiente, de triacilglicerol.
- En el ayuno y la inanición, debe proporcionarse glucosa para el cerebro y los eritrocitos; en el estado de ayuno temprano, esto se suministra a partir de las reservas de glucógeno. Para preservar la glucosa, el músculo y otros tejidos no la captan cuando la secreción de insulina es baja; utilizan ácidos grasos (y más tarde cuerpos cetónicos) como su combustible preferido.
- En el estado de ayuno, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres; en el ayuno y la inanición prolongados el hígado los usa para síntesis de cuerpos cetónicos, que se exportan para proporcionar el principal combustible para el músculo.
- Casi todos los aminoácidos, provenientes de la dieta o del recambio de proteína en los tejidos, pueden emplearse para gluconeogénesis, al igual que el glicerol proveniente del triacilglicerol.
- Ni los ácidos grasos —derivados de la dieta o de lipólisis de triacilglicerol del tejido adiposo— ni los cuerpos cetónicos —formados a partir de ácidos grasos en el estado de ayuno— pueden proporcionar sustratos para la gluconeogénesis.

REFERENCIAS

Bender DA: *Introduction to Nutrition and Metabolism*, 4th ed. CRC Press, 2007.

Brosnan JT: Comments on the metabolic needs for glucose and the role of gluconeogenesis. European Journal of Clinical Nutrition 1999;53:Suppl 1,S107–S111.

Frayn KN: Integration of substrate ow in vivo: some insights into metabolic control. Clinical Nutrition 1997;16:277–282.

Frayn KN: *Metabolic Regulation: A Human Perspective*, 2nd ed. Blackwell Science, 2003.

Zierler K: Whole body metabolism of glucose. American Journal of Physiology 1999;276:E409–E426.

CAPÍTULO 17

El ciclo del ácido cítrico: el catabolismo de la acetil-CoA

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs, ciclo del ácido tricarboxílico) es una secuencia de reacciones en las mitocondrias que oxidan la porción acetilo de la acetil-CoA, y reducen coenzimas que se reoxidan por medio de la cadena de transporte de electrones, enlazada a la formación de ATP.

El ciclo del ácido cítrico es la vía común nal para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas porque la glucosa, los ácidos grasos y casi todos los aminoácidos se metabolizan hacia acetil-CoA o intermediarios del ciclo. También tiene una función fundamental en la gluconeogénesis, lipogénesis e interconversión de aminoácidos. Muchos de estos procesos ocurren en casi todos los tejidos, pero el hígado es el único tejido en el cual todos suceden en un grado signi cativo. En consecuencia, hay profundas repercusiones cuando, por ejemplo, grandes números de células hepáticas quedan dañadas, como en la **hepatitis** aguda, o remplazadas por tejido conjuntivo (como en la **cirrosis**). Los pocos defectos genéticos de las enzimas del ciclo del ácido cítrico que se han informado se relacionan con daño neurológico grave como resultado de alteración muy considerable de la formación de ATP en el sistema nervioso central.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO PROPORCIONA SUSTRATO PARA LA CADENA RESPIRATORIA

El ciclo empieza con la reacción entre la porción acetilo de la acetil-CoA y el ácido dicarboxílico de cuatro carbonos oxaloacetato, lo que forma un ácido tricarboxílico de seis carbonos, el citrato. En las reacciones subsiguientes, se liberan dos moléculas de CO_2, y se regenera el oxaloacetato (fig. 17-1). Sólo se requiere una pequeña cantidad de oxaloacetato para la oxidación de una gran cantidad de acetil-CoA; puede considerarse que desempeña una **función catalítica**.

El ciclo del ácido cítrico es una parte integral del proceso mediante el cual se pone a disposición gran parte de la energía libre liberada en el transcurso de la oxidación de combustibles. Durante la oxidación de acetil-CoA, las coenzimas se reducen y después se reoxidan en la cadena respiratoria, enlazadas a la formación de ATP (fosforilación oxidativa, g. 17-2; cap. 13). Este proceso es **aerobio;** requiere oxígeno como el oxidante -nal de las coenzimas reducidas. Las enzimas del ciclo del ácido cítrico están ubicadas en la **matriz mitocondrial**, libres o jas a la membrana mitocondrial interna y la membrana de las crestas, donde también se encuentran las enzimas y coenzimas de la cadena respiratoria (cap. 13).

LAS REACCIONES DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO LIBERAN EQUIVALENTES REDUCTORES Y CO_2

La reacción inicial entre la acetil-CoA y el oxaloacetato para formar citrato está catalizada por la **citrato sintasa**, que forma un enlace de carbono-carbono entre el carbono metilo de la acetil-CoA y el carbono carbonilo del oxaloacetato (fig. 17-3). El enlace tioéster de la citril-CoA resultante se hidroliza, lo que libera citrato y CoASH, una reacción exotérmica.

La enzima **aconitasa** (aconitato hidratasa) isomeriza el citrato hacia isocitrato; la reacción ocurre en dos pasos: deshidratación hacia *cis*-aconitato, y rehidratación hacia isocitrato. Aun cuando el citrato es una molécula simétrica, con la aconitasa reacciona de manera asimétrica, de modo que los dos átomos de carbono que se pierden en reacciones subsiguientes del ciclo no son los que se añadieron provenientes de la acetil-CoA. Tal conducta asimétrica depende de **canalización**: transferencia del producto de la citrato sintasa de manera directa hacia el sitio activo de la aconitasa, sin entrar en solución libre. Esto proporciona integración de la actividad del ciclo del ácido cítrico y el suministro de citrato en el citosol como una fuente de acetil-CoA para la síntesis de ácido graso. El veneno **uoroacetato** es tóxico porque la uoroacetil-CoA se condensa con oxaloacetato para formar uorocitrato, que inhibe la aconitasa, lo que hace que se acumule citrato.

El isocitrato pasa por deshidrogenación catalizada por la **isocitrato deshidrogenasa** para formar, en un inicio, oxalosuccinato, que permanece unido a enzima y pasa por descarboxilación hacia α-cetoglutarato. La descarboxilación requiere iones Mg^{++} o Mn^{++}. La isocitrato deshidrogenasa tiene tres isoenzimas. Una, que usa NAD^+, sólo se encuentra en mitocondrias; las otras dos usan $NADP^+$ y se ubican en las mitocondrias y en el citosol. La oxidación del isocitrato enlazada a la cadena respiratoria procede casi por completo por medio de la enzima dependiente de NAD^+.

El α-cetoglutarato pasa por **descarboxilación oxidativa** en una reacción catalizada por un complejo de múltiples enzimas similar al involucrado en la descarboxilación oxidativa del piruvato (g. 18-5). El **complejo de α-cetoglutarato deshidroge-**

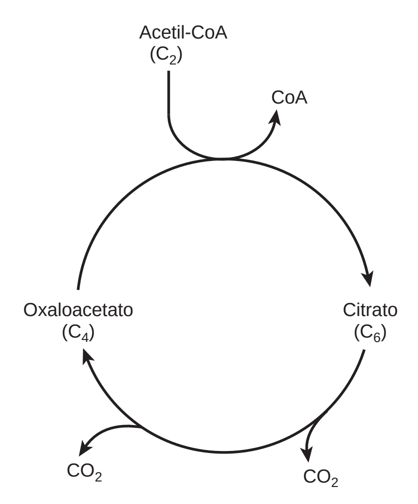


FIGURA 17-1 El ciclo del ácido cítrico, mismo que ilustra la función catalítica del oxaloacetato.

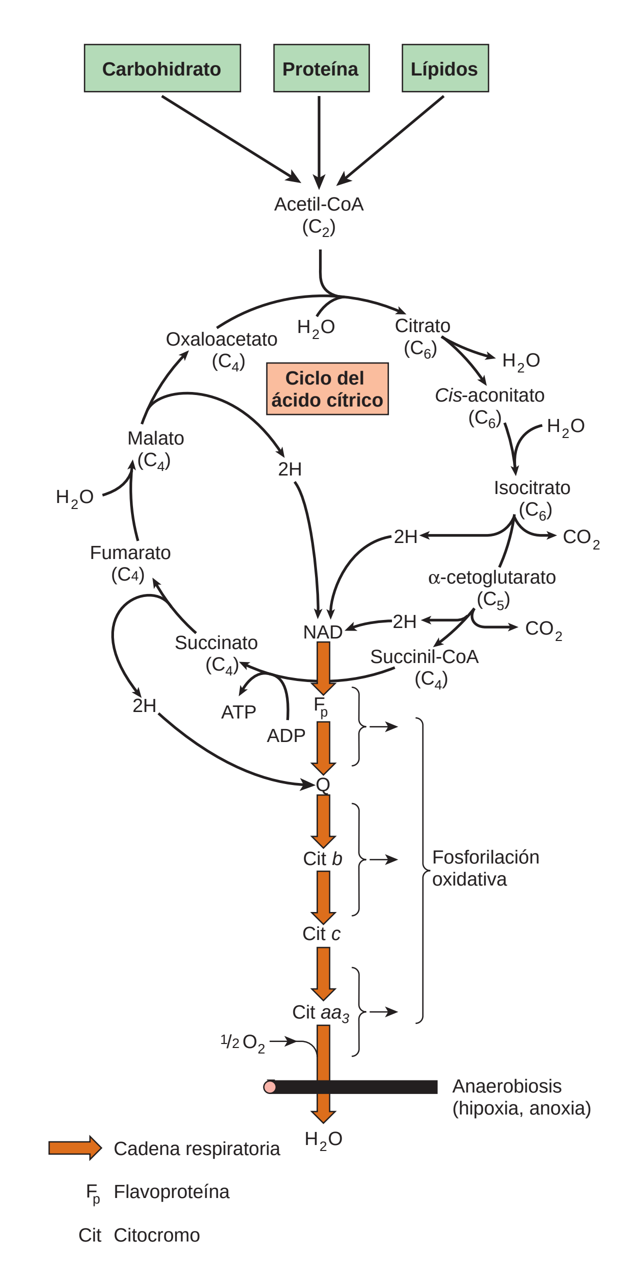


FIGURA 17-2 El ciclo del ácido cítrico: la principal vía catabólica para la acetil-CoA en organismos aerobios. La acetil-CoA, el producto del catabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, se capta hacia el ciclo y se oxida hacia CO_2, con la liberación de equivalentes reductores (2H). La oxidación subsiguiente de 2H en la cadena respiratoria lleva a fosforilación de ADP hacia ATP. Por cada vuelta del ciclo, se generan nueve ATP por medio de fosforilación oxidativa, y un ATP (o GTP) surge en el ámbito de sustrato a partir de la conversión de succinil-CoA en succinato.

nasa requiere los mismos cofactores que el complejo de piruvato deshidrogenasa —difosfato de tiamina, lipoato, NAD^+, FAD y CoA— y origina la formación de succinil-CoA. El equilibrio de esta reacción favorece a tal grado la formación de succinil-CoA, que debe considerarse unidireccional desde el punto de vista -siológico. Como sucede con la oxidación del piruvato (cap.18), la arsenita inhibe la reacción, lo que hace que se acumule el sustrato, **α-cetoglutarato**.

La succinil-CoA se convierte en succinato mediante la enzima **succinato tiocinasa (succinil-CoA sintetasa)**; se trata del único ejemplo en el ciclo del ácido cítrico de fosforilación en el ámbito de sustrato. Los tejidos en los cuales ocurre gluconeogénesis (el hígado y los riñones) contienen dos isoenzimas de succinato tiocinasa, una especí ca para difosfato de guanosina (guanosín difosfato; GDP) y la otra para ADP. El trifosfato de guanosina (guanosín trifosfato; GTP) formado se usa para la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato en la gluconeogénesis, y proporciona un enlace regulador entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y el retiro de oxaloacetato para la gluconeogénesis. Los tejidos no gluconeogénicos sólo tienen la isoenzima que usa ADP.

Cuando los cuerpos cetónicos se están metabolizando en tejidos extrahepáticos, hay una reacción alternativa catalizada por la **succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa (tioforasa)**, que comprende transferencia de CoA desde la succinil-CoA hacia el acetoacetato, lo que forma acetoacetil-CoA (cap. 22).

El metabolismo anterógrado de succinato, que lleva a la regeneración de oxaloacetato, es la misma secuencia de reacciones químicas que ocurre en la β-oxidación de ácidos grasos: deshidrogenación para formar un doble enlace de carbono-carbono, adición de agua para formar un grupo hidroxilo, y deshidrogenación adicional para dar el grupo oxo del oxaloacetato.

La primera reacción de deshidrogenación, que forma fumarato, es catalizada por la **succinato deshidrogenasa**, que está unida a la super cie interna de la membrana mitocondrial interna. La enzima contiene FAD y proteína hierro-azufre (Fe:S), y reduce de manera directa la ubiquinona en la cadena de transporte de electrones. La **fumarasa (fumarato hidratasa)** cataliza la adición de agua a través del doble enlace del fumarato, lo que produce malato. La malato deshidrogenasa convierte a este último en oxaloacetato, una reacción que requiere NAD^+. Aunque el equilibrio de esta reacción favorece con fuerza al malato, el ujo neto es hacia el oxaloacetato debido a la eliminación continua de este último (para formar citrato, como un sustrato para la gluconeogénesis, o para pasar por transaminación hacia aspartato), y a la reoxidación continua de NADH.

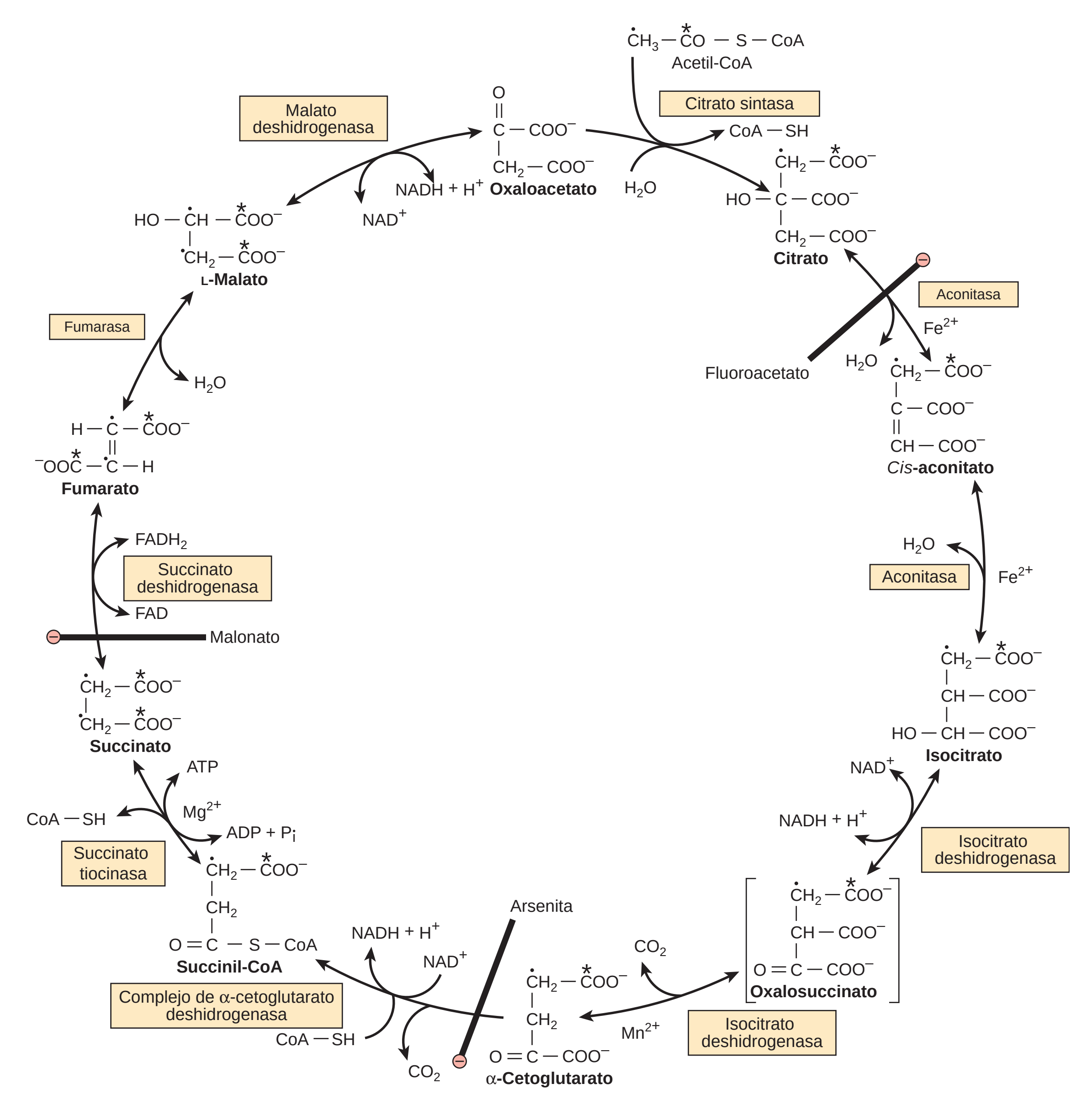


FIGURA 17-3 El ciclo del ácido cítrico (de Krebs). La oxidación de NADH y $FADH_2$ en la cadena respiratoria lleva a la formación de ATP por medio de fosforilación oxidativa. Para seguir el paso de la acetil-CoA por el ciclo, los dos átomos de carbono del radical acetilo se muestran marcados en el carbono carbonilo (*) y en el carbono metilo (•). Aunque dos átomos de carbono se pierden como CO_2 en una vuelta del ciclo, estos átomos no se derivan de la acetil-CoA que ha entrado de inmediato al ciclo, sino de la porción de la molécula de citrato que se derivó del oxaloacetato. Sin embargo, en el momento en que se completa una vuelta única del ciclo, el oxaloacetato que se regenera ahora está marcado, lo que lleva a que el CO_2 marcado se desprenda durante la segunda vuelta del ciclo. Dado que el succinato es un compuesto simétrico, la "aleatorización" del marcado ocurre en este paso, de modo que los cuatro átomos de carbono del oxaloacetato parecen quedar marcados después de una vuelta del ciclo. Durante la gluconeogénesis, parte de la marca en el oxaloacetato se incorpora hacia glucosa y glucógeno (fig. 20-1). Están indicados los sitios de inhibición ( ) por fluoroacetato, malonato y arsenita.

POR CADA VUELTA DEL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO SE FORMAN 10 ATP

Como resultado de oxidaciones catalizadas por las deshidrogenasas del ciclo del ácido cítrico, se producen tres moléculas de NADH y una de $FADH_2$ por cada molécula de acetil-CoA catabolizada en una vuelta del ciclo. Estos equivalentes reductores se transfieren hacia la cadena respiratoria (fig. 13-3), donde la reoxigenación de cada NADH origina la formación de ~2.5 ATP, y de $FADH_2$, ~1.5 ATP. Además, 1 ATP (o GTP) se forma mediante fosforilación en el ámbito de sustrato catalizada por la succinato tiocinasa.

LAS VITAMINAS DESEMPEÑAN FUNCIONES CLAVE EN EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

Cuatro de las vitaminas B (cap. 44) son esenciales en el ciclo del ácido cítrico y, por ende, en el metabolismo productor de energía: 1) la **riboflavina**, en forma de flavina adenina dinucleótido (FAD), un cofactor para la succinato deshidrogenasa; 2) **niacina**, en forma de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), el aceptor de electrón para la isocitrato deshidrogenasa, α-cetoglutarato deshidrogenasa, y malato deshidrogenasa; 3) tiamina **(vitamina B_1)**, como difosfato de tiamina, la coenzima para la descarboxilación en la reacción de α-cetoglutarato deshidrogenasa, y 4) **ácido pantoténico**, como parte de la coenzima A, el cofactor fijo a residuos ácido carboxílicos "activos" como acetil-CoA y succinil-CoA.

EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN CRUCIAL EN EL METABOLISMO

El ciclo del ácido cítrico no sólo es una vía para la oxidación de unidades de dos carbonos, sino que también es una vía importante para la interconversión de metabolitos que surgen por **transaminación** y **desaminación** de aminoácidos (caps. 28 y 29), y proporciona los sustratos para la **síntesis de aminoácidos** mediante transaminación (cap. 27), así como para **gluconeogénesis** (cap. 20) y **síntesis de ácidos grasos** (cap. 23). Dado que funciona en procesos tanto oxidativos como sintéticos, es **anfibólico** (fig. 17-4).

El ciclo del ácido cítrico participa en la gluconeogénesis, transaminación y desaminación

Todos los intermediarios del ciclo son en potencia **glucogénicos**, porque pueden dar lugar a oxaloacetato y, por ende, a producción neta de glucosa (en hígado y riñones, los órganos que llevan a cabo la gluconeogénesis; cap. 20). La enzima clave que cataliza la transferencia neta hacia afuera del ciclo hacia la gluconeogénesis es la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, la cual cataliza la descarboxilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato; el GTP actúa como el donador de fosfato (fig. 20-1).

La transferencia neta hacia el ciclo ocurre como resultado de varias reacciones. Entre las más importantes de esas reacciones **anapleróticas**, está la formación de oxaloacetato mediante la carboxilación de piruvato, catalizada por la **piruvato carboxilasa**. La reacción anterior es importante para mantener una concentración adecuada de oxaloacetato para la reacción de condensación con acetil-CoA. Si esta última se acumula, actúa como activador alostérico de la piruvato carboxilasa y como inhibidor de la piruvato deshidrogenasa, lo que asegura un aporte de oxaloacetato. El lactato, un importante sustrato para

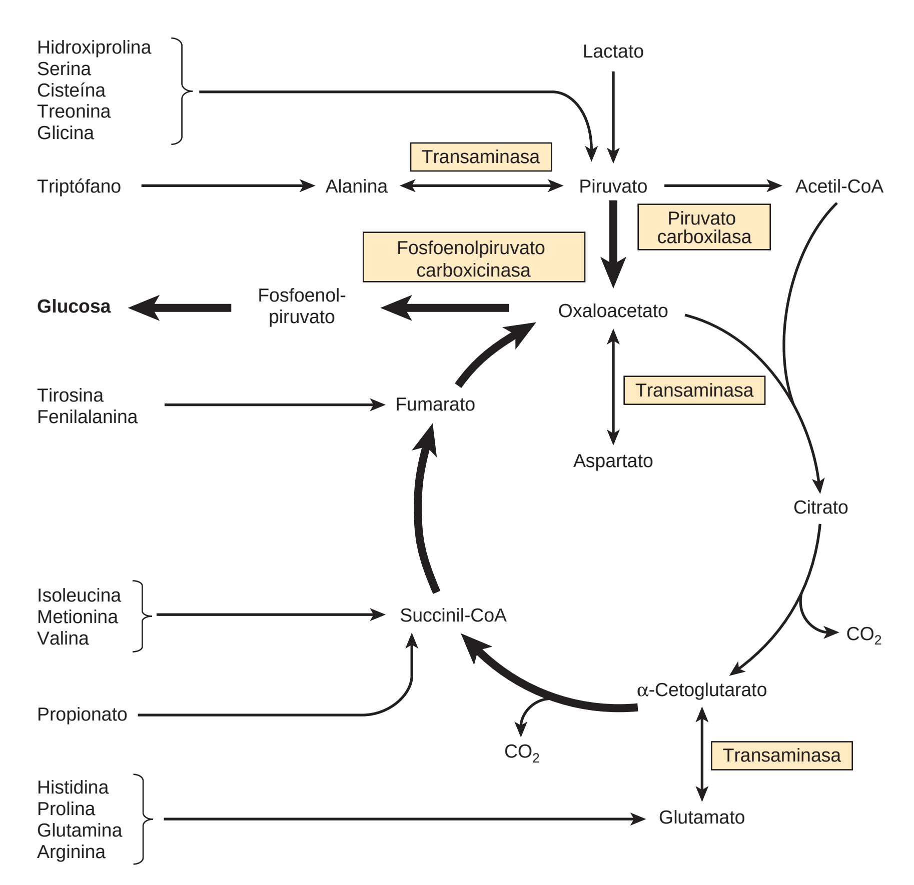


FIGURA 17-4 Participación del ciclo del ácido cítrico en la transaminación y la gluconeogénesis. Las flechas gruesas indican la principal vía de la gluconeogénesis.

la gluconeogénesis, entra al ciclo por medio de oxidación hacia piruvato y después carboxilación hacia oxaloacetato.

Las reacciones de **aminotransferasa** (transaminasa) forman piruvato a partir de alanina, oxaloacetato a partir de aspartato, y α-cetoglutarato a partir de glutamato. Dado que estas reacciones son reversibles, el ciclo también sirve como una fuente de esqueletos de carbono para la síntesis de estos aminoácidos. Otros aminoácidos contribuyen a la gluconeogénesis porque sus esqueletos de carbono dan origen a intermediarios del ciclo del ácido cítrico. La alanina, cisteína, glicina, hidroxiprolina, serina, treonina y triptófano dan piruvato; la arginina, histidina, glutamina y prolina dan α-cetoglutarato; la isoleucina, metionina y valina dan succinil-CoA; la tirosina y fenilalanina dan fumarato (g. 17-4).

En rumiantes, cuyo principal combustible metabólico son los ácidos grasos de cadena corta formados mediante fermentación bacteriana, tiene especial importancia la conversión de propionato, el principal producto glucogénico de la fermentación en el rumen, en succinil-CoA por medio de la vía de la metilmalonil-CoA (g. 20-2).

El ciclo del ácido cítrico participa en la síntesis de ácidos grasos

La acetil-CoA, formada a partir del piruvato mediante la acción de la piruvato deshidrogenasa, es el principal sustrato para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga en no rumiantes (fig. 17-5). (En rumiantes, la acetil-CoA se deriva de manera directa del acetato.) La piruvato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial, y la síntesis de ácidos grasos es una vía citosólica; la membrana mitocondrial es impermeable a acetil-CoA; esta última se pone a disposición en el citosol a partir del citrato sintetizado en la mitocondria, transportado hacia el citosol, y dividido en una reacción catalizada por la **ATP-citrato liasa**. El citrato sólo está disponible para transporte hacia afuera de la mitocondria cuando la aconitasa se satura con su sustrato, y el citrato no puede canalizarse de manera directa desde la citrato sintasa hacia la aconitasa. Esto asegura que el citrato se use para la síntesis de ácidos grasos sólo cuando hay una cantidad adecuada para asegurar actividad continua del ciclo.

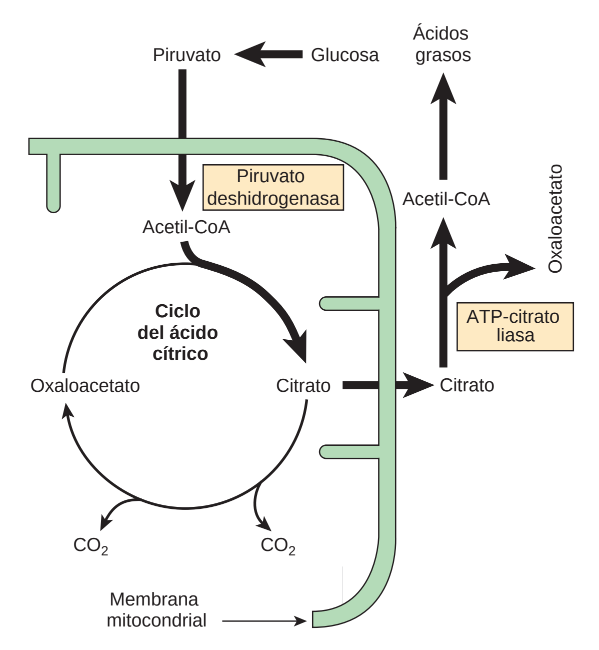


FIGURA 17-5 Participación del ciclo del ácido cítrico en la síntesis de ácidos grasos a partir de glucosa. Véase también la figura 23-5.

La regulación del ciclo del ácido cítrico depende principalmente de un aporte de cofactores oxidados

En casi todos los tejidos, donde la función primaria del ciclo del ácido cítrico yace en el metabolismo productor de energía, el **control respiratorio** por medio de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa regula la actividad del ciclo del ácido cítrico (cap. 13). De este modo, la actividad es dependiente del aporte de NAD^+ que, a su vez, debido al estrecho acoplamiento entre la oxidación y fosforilación, depende de la disponibilidad de ADP y, por ende, finalmente del índice de utilización de ATP en trabajo químico y físico. Además, enzimas individuales del ciclo están reguladas. Los sitios más probables para regulación son las reacciones no de equilibrio catalizadas por la piruvato deshidrogenasa, citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y α-cetoglutarato deshidrogenasa. Las deshidrogenasas son activadas por Ca^{2+}, que aumenta de concentración durante la contracción muscular y secreción, cuando hay aumento de la demanda de energía. En un tejido como el cerebro, que depende en su mayor parte de carbohidratos para el aporte de acetil-CoA, el control del ciclo del ácido cítrico puede ocurrir en la piruvato deshidrogenasa. Varias enzimas se encargan de la situación en cuanto a energía, como se demuestra por las proporciones [ATP]/[ADP] y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, hay inhibición alostérica de la citrato sintasa por el ATP y acil-CoA grasa de cadena larga. La activación alostérica de la isocitrato deshidrogenasa dependiente de NAD, mitocondrial, por ADP, es contrarrestada por ATP y NADH. El complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa está regulado de la misma manera que la piruvato deshidrogenasa (fig. 18-6). La succinato deshidrogenasa es inhibida por el oxaloacetato, y la disponibilidad de este último, según se controla por la malato deshidrogenasa, depende de la proporción [NADH]/[NAD^+]. Dado que la K_m para oxaloacetato de la citrato sintasa es del mismo orden de magnitud que la concentración intramitocondrial, es probable que la concentración de oxaloacetato controle el índice de formación de citrato. Queda por resolver cuáles de estos mecanismos son importantes *in vivo*.

RESUMEN

- El ciclo del ácido cítrico es la vía nal para la oxidación de carbohidratos, lípidos y proteínas. Su metabolito terminal común, la acetil-CoA, reacciona con el oxaloacetato para formar citrato. Mediante una serie de deshidrogenaciones y descarboxilaciones, el citrato es degradado, lo que reduce coenzimas, libera $2CO_2$ y regenera oxaloacetato.
- Las coenzimas reducidas se oxidan mediante la cadena respiratoria enlazada a la formación de ATP. De este modo, el ciclo es la principal vía para la formación de ATP, y está ubicado en la matriz de mitocondrias adyacente a las enzimas de la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.
- El ciclo del ácido cítrico es an bólico, puesto que además de oxidación, es importante en el suministro de esqueletos de carbono para la gluconeogénesis, la síntesis de ácidos grasos y la interconversión de aminoácidos.

REFERENCIAS

Baldwin JE, Krebs HA: e evolution of metabolic cycles. Nature 1981;291:381.

Bowtell JL, Bruce M: Glutamine: an anaplerotic precursor. Nutrition 2002;18:222.

Briere JJ, Favier J, et al: Tricarboxylic acid cycle dysfunction as a cause of human diseases and tumor formation. Am J Physiol Cell Physiol 2006;291:C1114.

Brunengraber H & Roe CR: Anaplerotic molecules: current and future. J Inherit Metab Dis 2006;29:327.

De Meirleir L: Defects of pyruvate metabolism and the Krebs cycle. J Child Neurol 2002;Suppl 3:3S26.

Gibala MJ, Young ME: Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. Acta Physiol Scand 2000;168:657.

Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, et al: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006; 63:843.

Kay J, Weitzman PDJ (editors): *Krebs' Citric Acid Cycle—Half a Century and Still Turning*. Biochemical Society, 1987.

Kornberg H: Krebs and his trinity of cycles. Nat Rev Mol Cell Biol 2000;1:225.

Ott P, Clemmesen O, et al: Cerebral metabolic disturbances in the brain during acute liver failure: from hyperammonemia to energy failure and proteolysis. Neurochem Int 2003;47:13.

Owen OE, Kalhan SC: e key role of anaplerosis and cataplerosis for citric acid cycle function. J Biol Chem 2002;277:30409.

Pithukpakorn, M: Disorders of pyruvate metabolism and the tricarboxylic acid cycle. Mol Genet Metab 2005;85:243.

Sumegi B, Sherry AD: Is there tight channelling in the tricarboxylic acid cycle metabolon? Biochem Soc Trans 1991;19:1002.

C A P Í T U L O

18

Glucólisis y la oxidación de piruvato

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todos los tejidos tienen al menos cierto requerimiento de glucosa. En el cerebro, esa demanda es considerable. La glucólisis, la principal vía para el metabolismo de la glucosa, ocurre en el citosol de todas las células. Es singular, por cuanto puede funcionar de manera aerobia o anaerobia, según la disponibilidad de oxígeno y la cadena de transporte de electrones. Los eritrocitos, que carecen de mitocondrias, dependen por completo de la glucosa como su combustible metabólico y la metabolizan mediante glucólisis anaeróbica. Sin embargo, oxidar glucosa más allá del piruvato (el producto terminal de la glucólisis) requiere tanto oxígeno como sistemas de enzimas mitocondriales: el complejo de piruvato deshidrogenasa, el ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria.

La glucólisis es la principal ruta para el metabolismo de la glucosa y la principal vía para el metabolismo de la fructosa, galactosa y otros carbohidratos derivados de la dieta. La capacidad de la glucólisis para proporcionar ATP en ausencia de oxígeno tiene especial importancia, porque esto permite al músculo esquelético tener un nivel muy alto de desempeño cuando el aporte de oxígeno es insu ciente, y permite a los tejidos sobrevivir a episodios de anoxia. Sin embargo, el músculo cardiaco, que está adaptado para el desempeño aerobio, tiene actividad glucolítica relativamente baja, y poca supervivencia en condiciones de **isquemia**. Las enfermedades en las cuales hay de ciencia de las enzimas de la glucólisis (p. ej., piruvato cinasa) se observan sobre todo como **anemias hemolíticas** o, si el defecto afecta el músculo esquelético (p. ej., fosfofructocinasa), como **fatiga**. En las células cancerosas en crecimiento rápido, la glucólisis procede a un índice alto, formando grandes cantidades de piruvato, el cual es reducido hacia lactato y exportado. Esto produce un ambiente local hasta cierto punto ácido en el tumor, mismo que puede tener inferencias para la terapia del cáncer. El lactato se usa para gluconeogénesis en el hígado, proceso costoso en cuanto a energía, del cual depende gran parte del **hipermetabolismo** que se observa en la **caquexia por cáncer**. La **acidosis láctica** se produce por varias causas, entre ellas actividad alterada de la piruvato deshidrogenasa.

LA GLUCÓLISIS PUEDE FUNCIONAR EN CONDICIONES ANAEROBIAS

En las primeras investigaciones de la glucólisis quedó de manifiesto que la fermentación en levaduras era similar a la degradación de glucógeno en el músculo. Fue evidente que cuando un músculo se contrae en un medio anaerobio, esto es, uno a partir del cual se excluye el oxígeno, el **glucógeno desaparece** y **aparece lactato**; cuando se admite oxígeno, tiene lugar la recuperación aerobia, y ya no se produce lactato. No obstante, si ocurre contracción en condiciones aerobias, no hay acumulación de lactato, y el piruvato es el principal producto terminal de la glucólisis. El piruvato se oxida más hacia CO_2 y agua (fig. 18-1). Cuando hay carencia de oxígeno, la reoxidación mitocondrial de NADH formado durante la glucólisis está disminuida, y el NADH se reoxida al reducir piruvato a lactato, de modo que se permite que proceda la glucólisis (fig. 18-1). Si bien la glucólisis puede ocurrir en condiciones anaerobias, esto tiene un precio, puesto que limita la cantidad de ATP formado por cada mol de glucosa oxidada, de modo que debe metabolizarse mucho más glucosa en condiciones anaerobias que en condiciones aerobias. En levaduras y algunos otros microorganismos, el piruvato formado en la glucólisis anaerobia no se reduce a lactato, sino que se descarboxila y reduce a etanol.

LAS REACCIONES DE LA GLUCÓLISIS CONSTITUYEN LA PRINCIPAL VÍA DE UTILIZACIÓN DE GLUCOSA

La ecuación general para la glucólisis de glucosa a lactato es como sigue:

$$\text{Glucosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{Pi} \rightarrow 2\ \text{Lactato} + 2\ \text{ATP} + 2\ H_2O$$

Todas las enzimas de la glucólisis (g. 18-2) se encuentran en el citosol. La glucosa entra a la glucólisis por medio de fosforilación hacia glucosa 6-fosfato, catalizada por la **hexocinasa**, usando ATP como el donador de fosfato. En condiciones siológicas, la fosforilación de glucosa hacia glucosa 6-fosfato puede considerarse irreversible. La hexocinasa es inhibida de manera alostérica por su producto, la glucosa 6-fosfato.

En tejidos que no son el hígado (y en las células β de los islotes pancreáticos), la disponibilidad de glucosa para glucólisis (o para síntesis de glucógeno en el músculo, cap. 19, y lipogénesis en el tejido adiposo, cap. 23) se controla mediante transporte hacia la célula, que a su vez está regulado por la **insulina.** La hexocinasa tiene a nidad alta (K_m baja) por la glucosa, y en el hígado está saturada en condiciones normales y, así, actúa a una velocidad constante para proporcionar glucosa 6-fosfato para satisfacer las necesidades de la célula. Las células del hígado

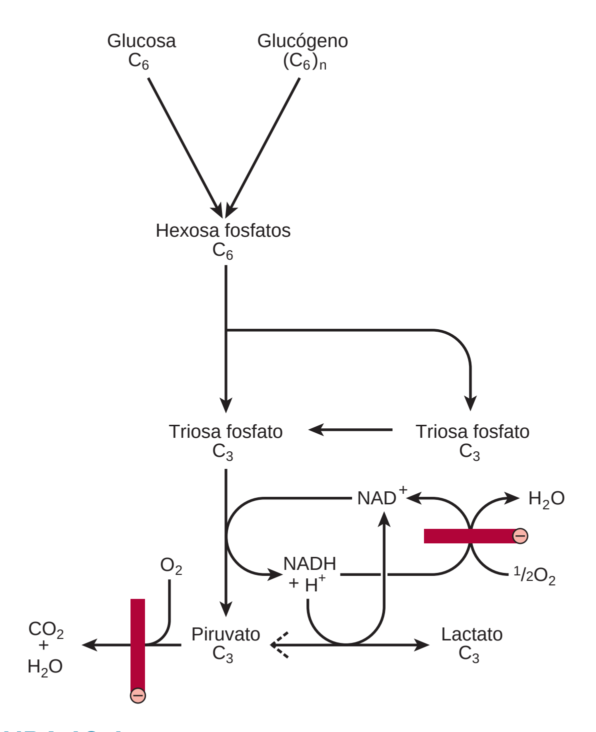


FIGURA 18-1 Resumen de la glucólisis. ⊖, bloqueado por condiciones anaerobias o por falta de mitocondrias que contienen enzimas respiratorias clave, como en los eritrocitos.

también contienen una isoenzima de la hexocinasa, la **glucocinasa**, que tiene una K_m mucho más alta que la concentración intracelular normal de glucosa. La función de la glucocinasa en el hígado es eliminar glucosa de la sangre después de una comida, proporcionando glucosa 6-fosfato en una cantidad superior a los requerimientos para la glucólisis, que se usa para la síntesis de glucógeno y lipogénesis.

La glucosa 6-fosfato es un importante compuesto en la unión de varias vías metabólicas: glucólisis, gluconeogénesis, la vía de la pentosa fosfato, glucogénesis y glucogenólisis. En la glucólisis se convierte en fructosa 6-fosfato mediante la **fosfohexosa isomerasa**, que comprende una isomerización aldosa-cetosa. Esta reacción va seguida por otra fosforilación catalizada por la enzima **fosfofructocinasa** (fosfofructocinasa-1) que forma fructosa 1,6-bisfosfato. En condiciones siológicas puede considerarse que la reacción de la fosfofructocinasa es funcionalmente irreversible; es inducible, está sujeta a regulación alostérica, y tiene una participación importante en la regulación del índice de glucólisis. La **aldolasa** (fructosa 1,6-bisfosfato aldolasa) divide a la fructosa 1,6-bisfosfato en dos triosa fosfatos, el gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. La enzima **fosfotriosa isomerasa** interconvierte estos dos últimos compuestos.

La glucólisis continúa con la oxidación de gliceraldehído 3-fosfato a 1,3-bisfosfoglicerato. La enzima que cataliza esta oxidación, **gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa**, es dependiente del NAD. Desde el punto de vista estructural consta de cuatro polipéptidos idénticos (monómeros) que forman un tetrámero. En cada polipéptido hay cuatro grupos —SH, derivados de residuos cisteína dentro de la cadena polipeptídica. Uno de los grupos —SH se encuentra en el sitio activo de la enzima (g. 18-3). El sustrato inicialmente se combina con este grupo —SH, lo que forma un tiohemiacetal que se oxida hacia un tiol éster; los hidrógenos removidos en esta oxidación se trans eren al NAD^+. El tiol éster pasa después por fosforólisis; se agrega fosfato inorgánico (P_i), lo que forma 1,3-bisfosfoglicerato, y el grupo —SH se reconstituye. En la reacción siguiente, catalizada por la **fosfoglicerato cinasa**, el fosfato se trans ere desde el 1,3-bisfosfoglicerato hacia ADP, lo que forma ATP (fosforilación a nivel de sustrato) y 3-fosfoglicerato.

Dado que se forman dos moléculas de triosa fosfato por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis, en esta etapa se forman dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa que pasa por glucólisis. La toxicidad del arsénico resulta de la competencia del arsenato con el fosfato inorgánico (P_i) en esta reacción anterior para dar 1-arseno-3-fosfoglicerato, que se hidroliza de manera espontánea hacia 3-fosfoglicerato sin formar ATP. La **fosfoglicerato mutasa** isomeriza el 3-fosfoglicerato hacia 2-fosfoglicerato. Es probable que el 2,3-bisfosfoglicerato (difosfoglicerato, DPG) sea un intermediario en esta reacción.

El paso subsiguiente es catalizado por la **enolasa**, y comprende una deshidratación, lo que forma fosfoenolpiruvato. La enolasa es inhibida por el **uoruro**, y cuando se obtienen muestras de sangre para medición de glucosa, se deben recolectar en tubos que contengan uoruro a n de inhibir la glucólisis. La enzima también depende de la presencia de Mg^{2+} o Mn^{2+}. El fosfato del fosfoenolpiruvato se trans ere hacia el ADP mediante la **piruvato cinasa** para formar dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada.

El estado redox del tejido ahora determina cuál de dos vías se sigue. En condiciones **anaerobias**, el NADH no se puede reoxidar por medio de la cadena respiratoria a oxígeno. El NADH reduce el piruvato hacia lactato, lo cual es catalizado por la **lactato deshidrogenasa**. Hay diferentes isoenzimas de lactato deshidrogenasa especí cas para tejido, que tienen importancia clínica (cap. 7). La reoxidación de NADH por medio de la formación de lactato permite que la glucólisis proceda en ausencia de oxígeno al regenerar su ciente NAD^+ para otro ciclo de la reacción catalizada por gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. En **condiciones aerobias**, el piruvato es captado hacia las mitocondrias, y después de descarboxilación oxidativa hacia acetil-CoA, el ciclo del ácido cítrico lo oxida hacia CO_2 (cap. 17). Los equivalentes reductores provenientes del NADH formado en la glucólisis son captados hacia las mitocondrias para oxidación por medio de uno de los dos transbordadores (lanzaderas) descritos en el capítulo 13.

Los tejidos que funcionan en condiciones hipóxicas producen lactato

Lo anterior es cierto para el músculo esquelético, en particular las fibras blancas, donde el índice de gasto de trabajo y, por ende, la necesidad de formación de ATP, puede exceder el índice al cual se puede captar oxígeno y utilizarlo (fig. 18-2). La glucólisis en los eritrocitos siempre termina en lactato, porque las reacciones subsiguientes de oxidación de piruvato son mitocondriales, y los eritrocitos carecen de mitocondrias. Otros tejidos que en circunstancias normales obtienen gran parte de su energía de la glucólisis y producen lactato son el cerebro, el tubo digestivo, la médula renal, la retina y la piel. La producción de lactato también se incrementa en el cho-

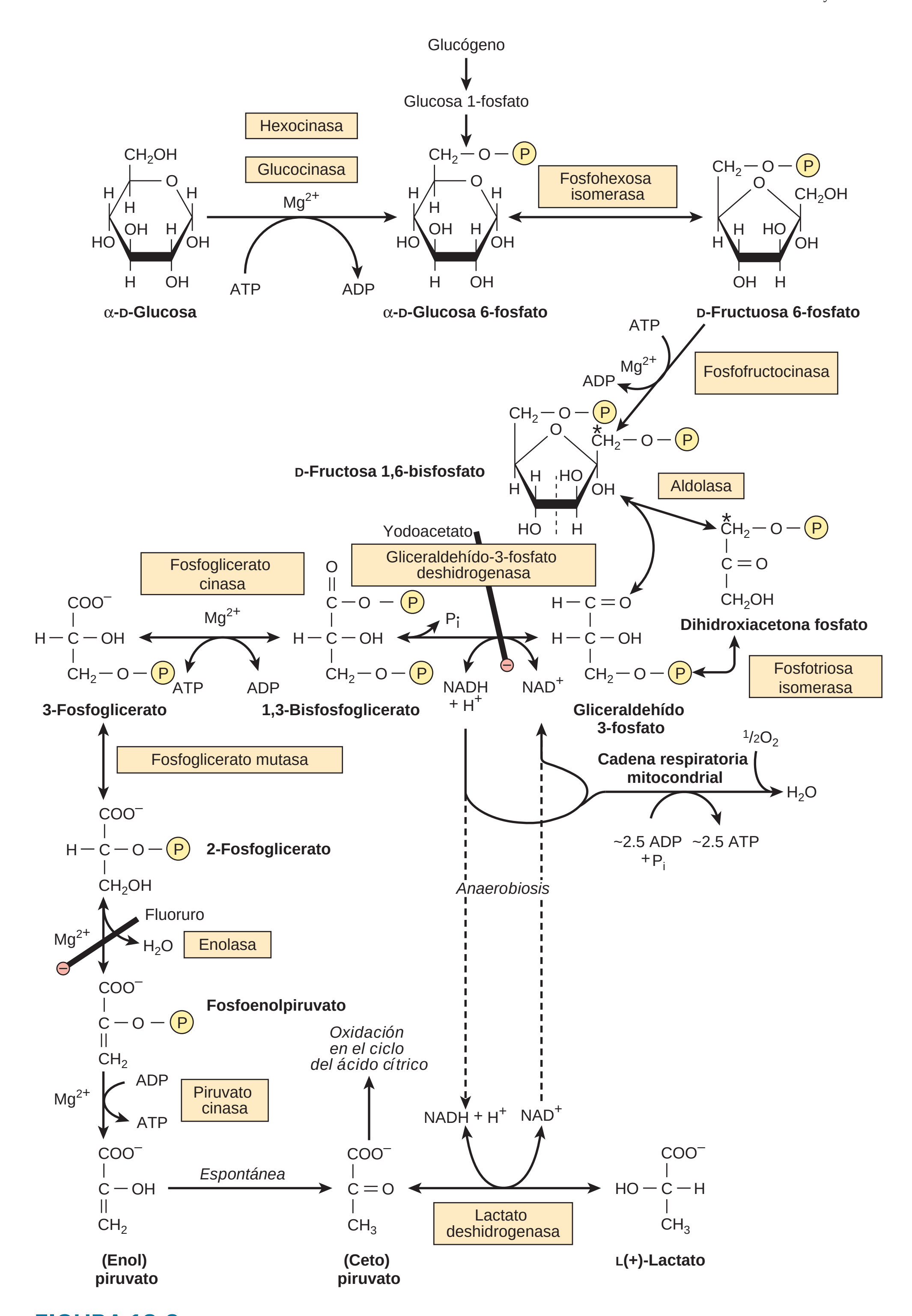


FIGURA 18-2 La vía de la glucólisis. (Ⓟ, —PO_3^{2-}; P_i, $HOPO_3^{2-}$; ⊖, inhibición.) *Los carbonos 1-3 de la fructosa bifosfato forman dihidroxiacetona fosfato, y los carbonos 4-6 forman gliceraldehído 3-fosfato. El término "bis-", como en el bisfosfato, indica que los grupos fosfato están separados, mientras que el término "di-", como en difosfato de adenosina, indica que están unidos.

que séptico; asimismo, muchos cánceres producen lactato. El hígado, los riñones y el corazón por lo general captan lactato y lo oxidan, pero lo producen en condiciones de hipoxia.

Cuando la producción de lactato es alta, como en el ejercicio vigoroso, el choque séptico y la caquexia por cáncer, gran parte se utiliza en el hígado para gluconeogénesis (cap. 20), lo que lleva a un incremento de la velocidad metabólica para proporcionar el ATP y GTP necesarios. El aumento resultante del consumo de oxígeno se observa como **deuda de oxígeno** después de ejercicio vigoroso.

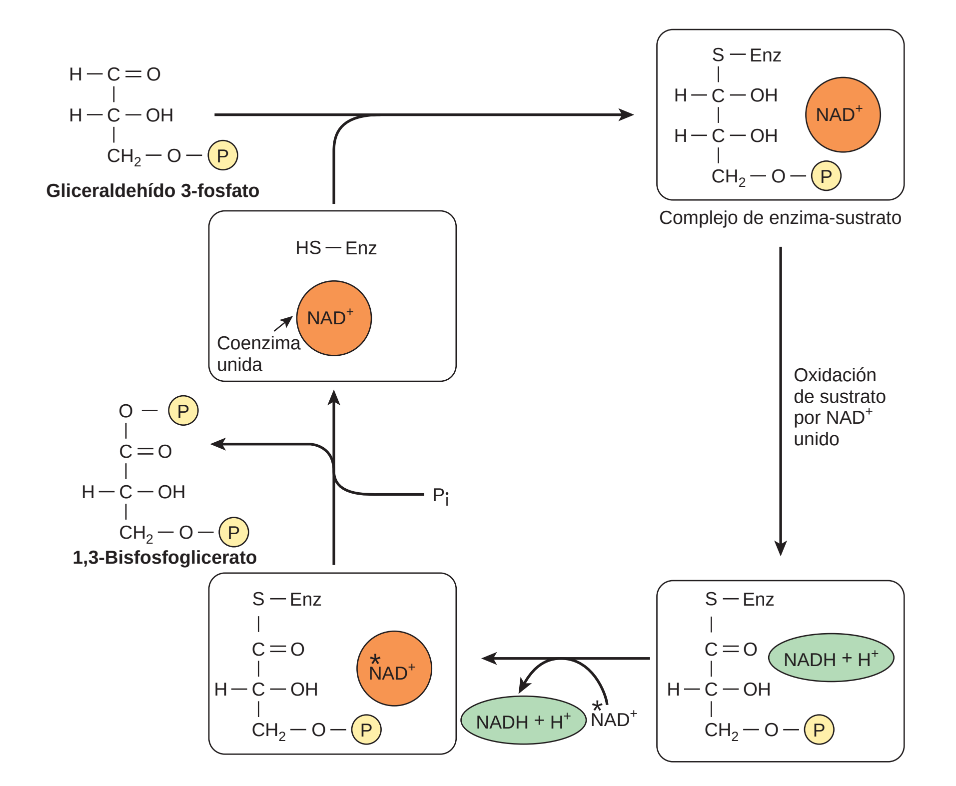


FIGURA 18-3 Mecanismo de oxidación del gliceraldehído 3-fosfato. (Enz, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa.) La enzima es inhibida por el veneno —SH yodoacetato que, así, tiene la capacidad para inhibir la glucólisis. El NADH producido en la enzima no está tan firmemente unido a la enzima como el NAD+. En consecuencia, el NADH es desplazado con facilidad por otra molécula de NAD+.

En algunas circunstancias llega a formarse lactato en el citosol, pero después entra a la mitocondria para ser oxidado hacia piruvato por el metabolismo posterior. Esto proporciona una vía para la transferencia de equivalentes reductores desde el citosol hacia la mitocondria para la cadena de transporte de electrones además de los transbordadores de glicerofosfato (g. 13-12) y malato (g. 13-13).

LA GLUCÓLISIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS QUE INVOLUCRAN REACCIONES NO EN EQUILIBRIO

Aunque la mayor parte de las reacciones de la glucólisis son reversibles, tres son en gran medida exergónicas y, por ende, deben considerarse irreversibles desde el punto de vista fisiológico. Estas reacciones, catalizadas por la **hexocinasa** (y glucocinasa), **fosfofructocinasa** y **piruvato cinasa**, son los principales sitios de regulación de la glucólisis. La fosfofructocinasa está significativamente inhibida a concentraciones intracelulares normales de ATP; esta inhibición puede aliviarse con rapidez mediante 5′AMP que se forma a medida que empieza a acumularse ADP, lo que señala la necesidad de un incremento en la velocidad de la glucólisis (cap. 20). Las células que tienen la capacidad de **gluconeogénesis** (que revierten la vía glucolítica, cap. 20) tienen diferentes enzimas que catalizan reacciones para revertir estos pasos irreversibles; glucosa 6-fosfatasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa y, para revertir la reacción de la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa. La **fructosa** entra a la glucólisis mediante fosforilación hacia fructosa 1-fosfato,

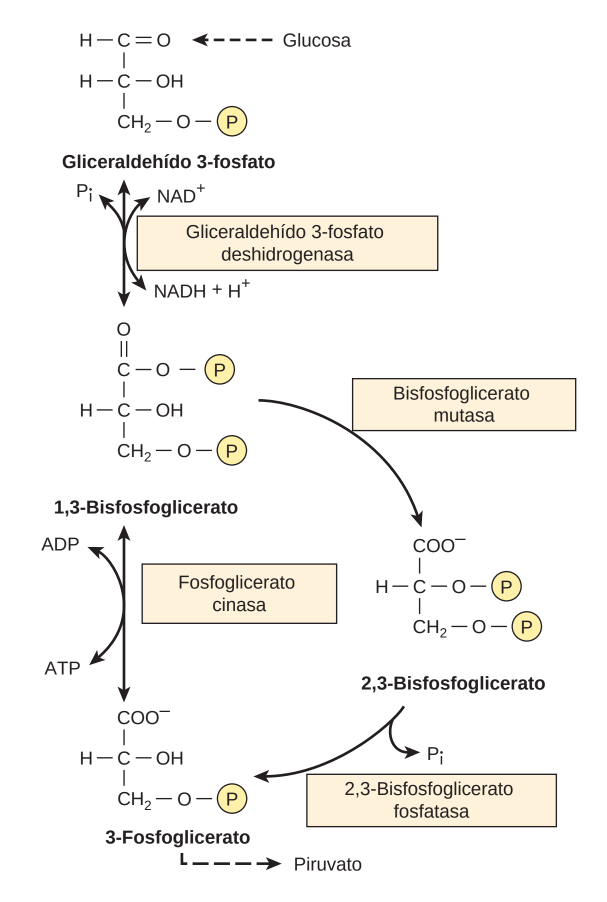


FIGURA 18-4 Vía del 2,3-bisfosfoglicerato en los eritrocitos.

y evita los principales pasos reguladores; de este modo, da por resultado la formación de más piruvato (y acetil-CoA) que es necesario para la formación de ATP (cap. 21). En el hígado y el tejido adiposo, esto lleva a aumento de la lipogénesis, y una ingestión alta de fructosa puede ser un factor en la aparición de obesidad.

En los eritrocitos es posible evitar el paso por el primer sitio de formación de ATP en la glucólisis

En los eritrocitos, es factible evitar hasta cierto grado el paso por la reacción catalizada por la **fosfoglicerato cinasa** mediante la reacción de la **bisfosfoglicerato mutasa**, que cataliza la conversión de 1,3-bisfosfoglicerato en 2,3-bisfosfoglicerato, seguida por hidrólisis hacia 3-fosfoglicerato y P_i, catalizada por la **2,3-bisfosfoglicerato fosfatasa** (fig. 18-4). Esta vía alternativa comprende rendimiento neto nulo de ATP por glucólisis. Sin embargo, sirve para proporcionar 2,3-bisfosfoglicerato, que se une a la hemoglobina, lo que disminuye su afinidad por el oxígeno y, así, hace que el oxígeno esté disponible con más facilidad para los tejidos (cap. 6).

LA OXIDACIÓN DEL PIRUVATO HACIA ACETIL-CoA ES LA RUTA IRREVERSIBLE DESDE LA GLUCÓLISIS HACIA EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

El piruvato, formado en el citosol, es transportado hacia la mitocondria mediante un simportador *(symporter)* de protones (fig. 13-10). Dentro de la mitocondria, se descarboxila de manera oxidativa hacia acetil-CoA mediante un complejo multienzimático relacionado con la membrana mitocondrial interna. Este **complejo de piruvato**

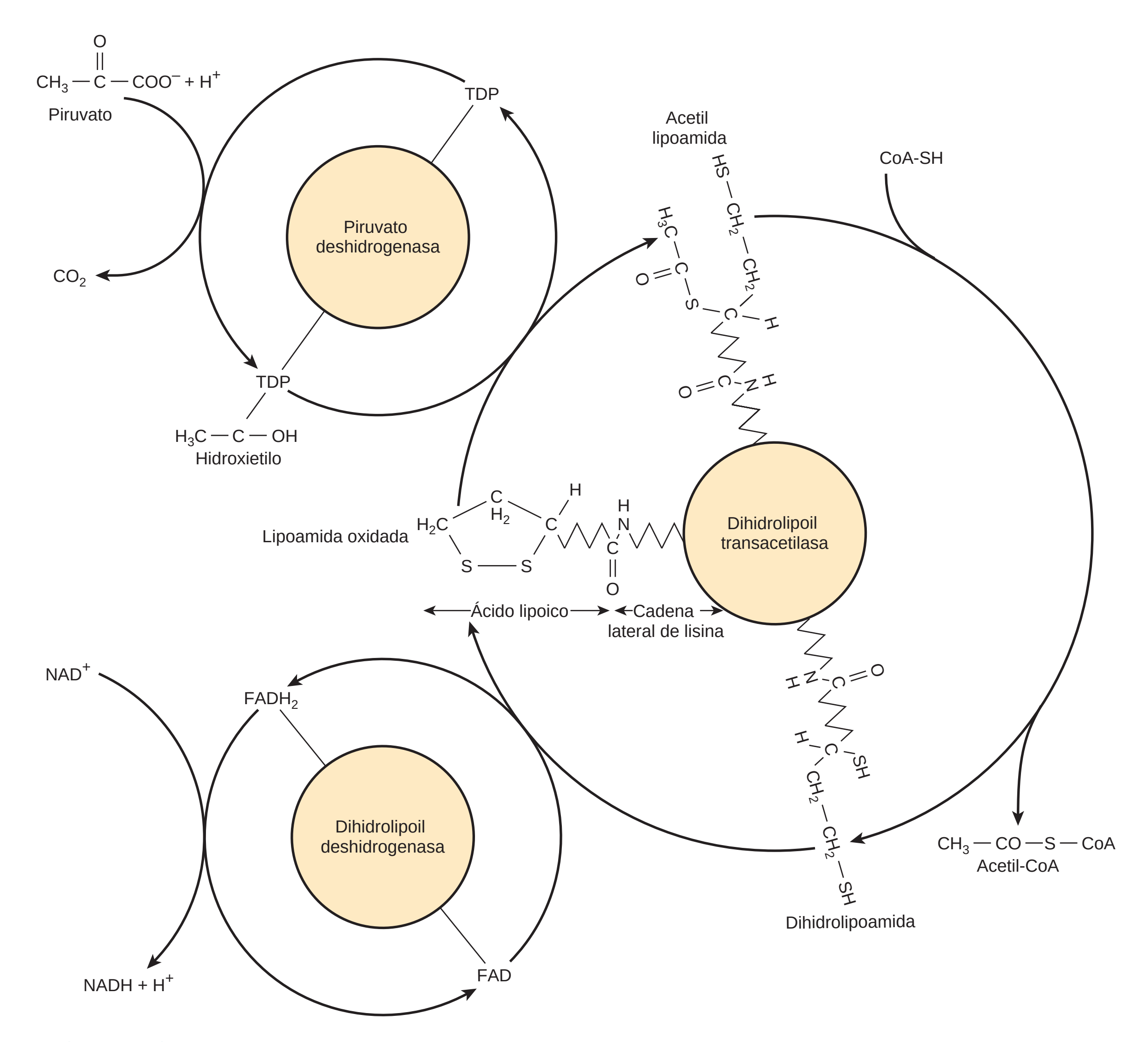


FIGURA 18-5 Descarboxilación oxidativa del piruvato por el complejo de piruvato deshidrogenasa. El ácido lipoico está unido mediante un enlace amida a un residuo lisina del componente transacetilasa del complejo enzimático. Forma un brazo flexible largo, que permite que el grupo prostético del ácido lipoico rote de manera secuencial entre los sitios activos de cada una de las enzimas del complejo. (NAD^+, nicotinamida adenina dinucleótido; FAD, flavina adenina dinucleótido; TDP, difosfato de tiamina.)

deshidrogenasa es análogo al complejo de α-cetoglutarato deshidrogenasa del ciclo del ácido cítrico (fig. 17-3). El piruvato es descarboxilado por la **piruvato deshidrogenasa** componente del complejo enzimático hacia un derivado hidroxietilo del anillo tiazol de **tiamina difosfato** unido a enzima que, a su vez, reacciona con lipoamida oxidada, el grupo prostético de la **dihidrolipoil transacetilasa**, para formar acetil lipoamida (fig. 18-5). La tiamina es la vitamina B_1 (cap. 44) y, cuando hay deficiencia, el metabolismo de la glucosa está alterado, y hay acidosis láctica y pirúvica importantes (y que en potencia ponen en peligro la vida). La acetil lipoamida reacciona con la coenzima A para formar acetil-CoA y lipoamida reducida. La reacción se completa cuando la lipoamida reducida se vuelve a oxidar mediante una flavoproteína, la **dihidrolipoil deshidrogenasa**, que contiene FAD. Por último, la flavoproteína reducida se oxida mediante NAD^+ que, a su vez, transfiere equivalentes reductores a la cadena respiratoria.

$$\text{Piruvato} + NAD^+ + \text{CoA} \rightarrow \text{Acetil-CoA} + NADH + H^+ + CO_2$$

El complejo de piruvato deshidrogenasa consta de varias cadenas polipeptídicas de cada una de las tres enzimas componentes, y los intermediarios no se disocian, sino que permanecen unidos a las enzimas. Ese complejo de enzimas, en el cual los sustratos pasan desde una enzima hacia la siguiente, aumenta la velocidad de la reacción y elimina reacciones colaterales, lo que aumenta la e ciencia general.

La piruvato deshidrogenasa está regulada mediante inhibición por producto terminal y modificación covalente

La piruvato deshidrogenasa es inhibida por sus productos, acetil-CoA y NADH (fig. 18-6). También está regulada por una cinasa que fosforila tres residuos de serina del componente piruvato deshidrogenasa del complejo de múltiples enzimas, lo que da por resultado decremento de la actividad, y por desfosforilación por una fosfatasa que causa un aumento de la actividad. La cinasa se activa por incre-

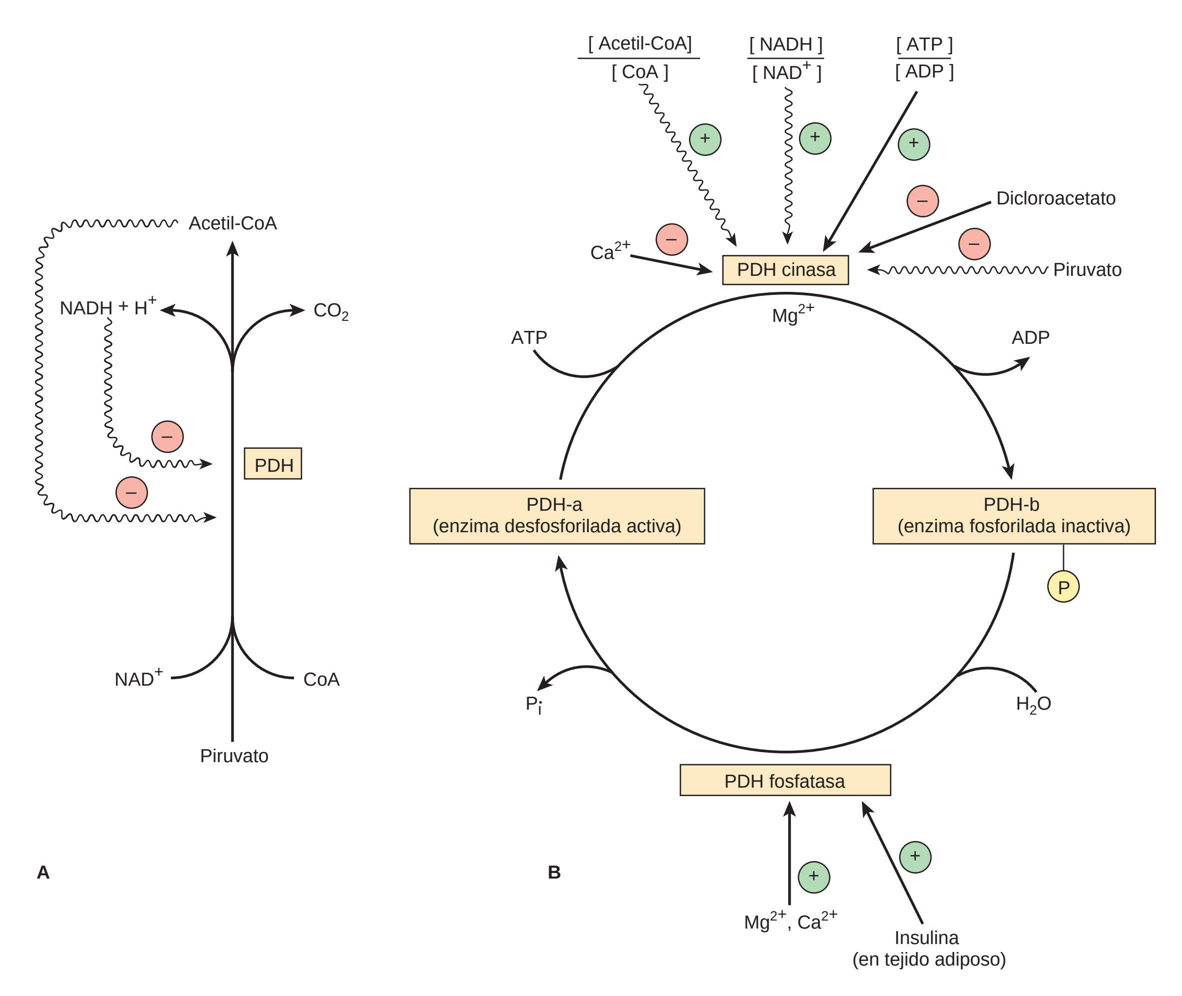


FIGURA 18-6 Regulación de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Las flechas onduladas indican efectos alostéricos. **(A)** Regulación mediante inhibición por producto terminal. **(B)** Regulación por interconversión de formas activa e inactiva.

CUADRO 18-1 Formación de ATP en el catabolismo de la glucosa

Vía	Reacción catalizada por	Método de formación de ATP	ATP por mol de glucosa
Glucólisis	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5*
	Fosfoglicerato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
	Piruvato cinasa	Fosforilación en el ámbito de sustrato	2
			10
	Consumo de ATP por las reacciones de hexocinasa y fosfofructocinasa		−2
			7 netos
Ciclo del ácido cítrico	Piruvato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Isocitrato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	α-Cetoglutarato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
	Succinato tiocinasa	Fosforilación a nivel de sustrato	2
	Succinato deshidrogenasa	Oxidación de 2 $FADH_2$ en la cadena respiratoria	3
	Malato deshidrogenasa	Oxidación de 2 NADH en la cadena respiratoria	5
			25 netos
	Total por mol de glucosa en condiciones aerobias		32
	Total por mol de glucosa en condiciones anaerobias		2

*Esto supone que el NADH formado en la glucólisis se transporta hacia las mitocondrias mediante el transbordador de malato (fig. 13-13). Si se usa el transbordador de glicerofosfato, sólo se formarán 1.5 ATP por cada mol de NADH. Note que hay una ventaja considerable en el uso de glucógeno en lugar de glucosa para la glucólisis anaerobia en el músculo, porque el producto de la glucógeno fosforilasa es la glucosa 1-fosfato (figura 19-1), que es interconvertible con glucosa 6-fosfato. Esto ahorra el ATP que de otro modo sería usado por la hexocinasa, lo que aumenta el rendimiento neto de ATP de dos a tres por cada glucosa.

mentos de las proporciones [ATP]/[ADP], [acetil-CoA]/[CoA], y [NADH]/[NAD^+]. De este modo, la piruvato deshidrogenasa y, por ende, la glucólisis, son inhibidas tanto cuando se dispone de cantidades adecuadas de ATP (y coenzimas reducidas para la formación de ATP), como cuando los ácidos grasos se están oxidando. En el ayuno, cuando aumentan las concentraciones de ácido graso libre, hay un decremento de la proporción de la enzima en la forma activa, lo que lleva a una preservación de carbohidrato. En el tejido adiposo, donde la glucosa proporciona acetil-CoA para lipogénesis, la enzima se activa en respuesta a insulina.

La oxidación de la glucosa da hasta 32 moles de ATP en condiciones aerobias, pero sólo 2 moles en ausencia de O_2

Cuando un mol de glucosa es objeto de combustión en un calorímetro hasta CO_2 y agua, se liberan unos 2 870 kJ como calor. Cuando la oxidación ocurre en los tejidos, se generan alrededor de 32 moles de ATP por cada molécula de glucosa oxidada hasta CO_2 y agua. *In vivo*, la ΔG para la reacción de ATP sintasa se ha calculado como cercana a 51.6 kJ. Resulta que la energía total captada en el ATP por cada mol de glucosa oxidada es de 1 651 kJ, un 58% de la energía de combustión. La mayor parte del ATP se forma mediante fosforilación oxidativa originada por la reoxidación de coenzimas reducidas por la cadena respiratoria; el resto se forma por fosforilación a nivel de sustrato (cuadro 18-1).

ASPECTOS CLÍNICOS

La inhibición del metabolismo del piruvato lleva a acidosis láctica

La arsenita y los iones mercúricos reaccionan con los grupos —SH del ácido lipoico, e inhiben la piruvato deshidrogenasa, como lo hace una **deficiencia de tiamina en la dieta**, lo que permite que se acumule piruvato. Muchos alcohólicos tienen deficiencia de tiamina (tanto por llevar una dieta inadecuada como porque el alcohol inhibe la absorción de tiamina) y a menudo presentan acidosis pirúvica y láctica que en potencia es mortal. Los pacientes con **deficiencia hereditaria de piruvato deshidrogenasa**, que puede ser el resultado de defectos en uno o más de los componentes del complejo de enzimas, también presentan acidosis láctica, en particular después de una carga de glucosa. Debido a la dependencia del cerebro de la glucosa como un combustible, estos defectos metabólicos por lo general causan alteraciones neurológicas.

La deficiencia hereditaria de aldolasa A y la deficiencia de piruvato cinasa en los eritrocitos causan **anemia hemolítica**. Los pacientes con **deficiencia de fosfofructocinasa muscular** tienen baja capacidad para hacer ejercicio, en particular si están recibiendo dietas con alto contenido de carbohidratos. Al proporcionar lípido como un combustible alternativo, por ejemplo, durante la inanición, cuando los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos en la sangre están aumentados, la capacidad para desempeñar trabajo mejora.

RESUMEN

- La glucólisis es la vía citosólica de todas las células de mamífero para el metabolismo de la glucosa (o del glucógeno) el piruvato a lactato.
- Puede funcionar de manera anaeróbica al regenerar NAD^+ oxidado (que se requiere en la reacción de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa), al reducir piruvato hacia lactato.
- El lactato es el producto terminal de la glucólisis en condiciones anaerobias (p. ej., en músculo que está haciendo ejercicio), o cuando falta la maquinaria metabólica para la oxidación adicional de piruvato (p. ej., en los eritrocitos).
- La glucólisis está regulada por tres enzimas que catalizan reacciones no en equilibrio (irreversibles): hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa.
- En los eritrocitos, puede evitarse el paso por el primer sitio en la glucólisis para la generación de ATP, lo que lleva a la formación de 2,3-bisfosfoglicerato, que tiene importancia en el decremento de la afinidad de la hemoglobina por el O_2.
- El piruvato se oxida a acetil-CoA mediante un complejo de múltiples enzimas, piruvato deshidrogenasa, que es dependiente del cofactor difosfato de tiamina derivado de vitamina.
- Las condiciones que involucran un deterioro del metabolismo del piruvato suelen llevar a acidosis láctica.

REFERENCIAS

Behal RH, Buxton DB, Robertson JG, Olson MS: Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. Annu Rev Nutr 1993;13:497.

Boiteux A, Hess B: Design of glycolysis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 1981;293:5.

Fothergill-Gilmore LA: The evolution of the glycolytic pathway. Trends Biochem Sci 1986;11:47.

Gladden LB: Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. J Physiol 2004;558:5.

Kim J-W, Dang CV: Multifaceted roles of glycolytic enzymes. Trends Biochem Sci 2005;30:142.

Levy B: Lactate and shock state: the metabolic view. Curr Opin Crit Care 2006;1:315.

Maj MC, Cameron JM, et al: Pyruvate dehydrogenase phosphatase deficiency: orphan disease or an under-diagnosed condition? Mol Cell Endocrinol 2006;249:1.

Martin E, Rosenthal RE, et al: Pyruvate dehydrogenase complex: metabolic link to ischemic brain injury and target of oxidative stress. J Neurosci Res 2005;79:240.

Patel MS, Korotchkina LG: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex. Biochem Soc Trans 2006;34:217.

Philp A, Macdonald AL, et al: Lactate—a signal coordinating cell and systemic function. J Exp Biol 2005;208:4561.

Pumain R, Laschet J: A key glycolytic enzyme plays a dual role in GABAergic neurotransmission and in human epilepsy. Crit Rev Neurobiol 2006;18:197.

Rider MH, Bertrand L, et al: 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis. Biochem J 2004;381:561.

Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D: Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. Am J Physiol 2004; 287:R502.

Sugden MC, Holness MJ: Mechanisms underlying regulation of the expression and activities of the mammalian pyruvate dehydrogenase kinases. Arch Physiol Biochem 2006; 112:139.

Wasserman DH: Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state. Annu Rev Physiol 1995;57:191.

C A P Í T U L O

19

Metabolismo del glucógeno

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El glucógeno es el principal carbohidrato de almacenamiento en animales; corresponde al almidón en los vegetales; es un polímero rami cado de α-d-glucosa (g. 14-13). Se encuentra sobre todo en hígado y músculos. Aunque el contenido de glucógeno en hígado es mayor que en músculos, dado que la masa muscular del cuerpo es bastante mayor que la del hígado, alrededor de tres cuartas partes del glucógeno corporal total están en el músculo (cuadro 19-1).

El glucógeno del músculo proporciona una fuente de glucosa fácilmente disponible para glucólisis dentro del músculo en sí. La función del glucógeno hepático es almacenar glucosa y exportarla para mantener la **glucosa sanguínea** entre las comidas. La concentración de glucógeno en el hígado es de alrededor de 450 mM después de una comida; disminuye a alrededor de 200 mM tras ayuno de toda la noche; luego de 12 a 18 horas de ayuno, el glucógeno hepático está agotado casi en su totalidad. Si bien el glucógeno hepático no produce de manera directa glucosa libre (porque el músculo carece de glucosa 6-fosfatasa), el piruvato formado mediante glucólisis en el músculo puede pasar por transaminación hacia alanina, que se exporta desde el músculo y se usa para gluconeogénesis en el hígado (fig. 20-4). Las **enfermedades por depósito de glucógeno** son un grupo de trastornos hereditarios que se caracterizan por movilización deficiente de glucógeno o depósito de formas anormales del mismo, lo que lleva a debilidad muscular; algunas de estas enfermedades dan por resultado muerte temprana.

La estructura muy ramificada del glucógeno proporciona un gran número de sitios para glucogenólisis, lo que permite liberación rápida de glucosa 1-fosfato para actividad muscular. Los atletas de resistencia requieren liberación más lenta y más sostenida de glucosa 1-fosfato. La formación de puntos de ramificación en el glucógeno es más lenta que la adición de unidades de glucosa a una cadena lineal, y algunos atletas de resistencia practican carga de carbohidratos: hacer ejercicio hasta quedar exhausto (cuando el glucógeno muscular está agotado en su mayor parte), seguido por una comida con alto contenido de carbohidratos, lo que da por resultado síntesis rápida de glucógeno, con menos puntos de ramificación que lo normal.

LA GLUCOGÉNESIS OCURRE DE MANERA PRINCIPAL EN MÚSCULO E HÍGADO

La vía de la biosíntesis de glucógeno implica un nucleótido especial de la glucosa

Al igual que en la glucólisis, la glucosa se fosforila hacia glucosa 6-fosfato, lo cual es catalizado por la **hexocinasa** en el músculo y la **glucocinasa** en el hígado (g. 19-1). La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato mediante la **fosfoglucomutasa**. La enzima en sí está fosforilada y el grupo fosfo participa en una reacción reversible en la cual la glucosa 1,6-bisfosfato es un intermediario. A continuación, la glucosa 1-fosfato reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar el nucleótido activo **uridina difosfato glucosa (UDPGlc)** y pirofosfato (g. 19-2), catalizado por la **UDPGlc pirofosforilasa**. La reacción procede en la dirección de la formación de UDPGlc porque la **pirofosfatasa** cataliza la hidrólisis de pirofosfato hacia 2 × fosfato, de modo que se elimina uno de los productos de la reacción.

La **glucógeno sintasa** cataliza la formación de un enlace glucósido entre el C-1 de la glucosa de UDPGlc y el C-4 de un residuo glucosa terminal de glucógeno, lo que libera uridina difosfato (UDP). Una molécula de glucógeno preexistente, o "preparador de glucógeno" debe estar presente para iniciar esta reacción. El preparador de glucógeno a su vez se forma sobre un preparador de proteína conocido como **glucogenina**, esta última es una proteína de 37 kDa que es glucosilada en un residuo tirosina específico por la UDPGlc. Se fijan más residuos glucosa en la posición 1 → 4 (catalizada por la glucogenina en sí) para formar una cadena corta que es un sustrato para la glucógeno sintasa. En el músculo estriado, la glucogenina permanece fija en el centro de una molécula de glucógeno (fig. 14-13); en el hígado, el número de moléculas de glucógeno es mayor que el de moléculas de glucogenina.

La ramificación comprende el desprendimiento de cadenas de glucógeno existentes

La adición de un residuo glucosa a una cadena de glucógeno preexistente, o "preparador", ocurre en el extremo externo, no reductor, de la molécula, de modo que las ramas de la molécula de glucógeno se alargan a medida que se forman enlaces 1 → 4 sucesivos (g. 19-3). Cuando la cadena tiene al menos 11 residuos de glucosa de largo, la **enzima rami cadora** trans ere una parte de la cadena 1 → 4 (por lo menos seis residuos de glucosa) hacia una cadena vecina para formar un enlace 1 → 6, lo que establece un **punto de rami cación**. Las ramas crecen mediante adiciones extra de unidades 1 → 4-glucosilo y rami cación adicional.

LA GLUCOGENÓLISIS NO ES EL INVERSO DE LA GLUCOGÉNESIS, SINO QUE ES UNA VÍA SEPARADA

La **glucógeno fosforilasa** cataliza el paso limitador en la glucogenólisis al catalizar la división fosforolítica (fosforólisis; de hidrólisis) de

CUADRO 19-1 Almacenamiento de carbohidrato en un ser humano de 70 kg

	Porcentaje del peso de tejido	Peso de tejido	Contenido corporal
Glucógeno hepático	5.0	1.8 kg	90 g
Glucógeno muscular	0.7	35 kg	245 g
Glucosa extracelular	0.1	10 L	10 g

los enlaces 1 → 4 del glucógeno para dar glucosa 1-fosfato (g. 19-4). La glucógeno fosforilasa requiere fosfato de piridoxal (cap. 44) como su coenzima. Al contrario de las reacciones del metabolismo de aminoácidos (cap. 29), en las cuales el aldehído es el grupo reactivo, en la fosforilasa es el grupo fosfato el que tiene actividad catalítica. Los residuos glucosilo terminales de las cadenas más externas de la molécula de glucógeno se eliminan de manera secuencial hasta que quedan alrededor de cuatro residuos glucosa a uno u otro lados de una rama 1 → 6 (g. 19-4). Otra enzima **(α-[1 → 4] → α-[1 → 4] glucano transferasa)** trans ere una unidad de trisacárido desde una rama hacia la otra, lo que expone el punto de rami cación 1 → 6. La **hidrólisis** de los enlaces 1 → 6 requiere la **enzima desrami -cadora**; la transferencia de glucano y la enzima desrami cadora son

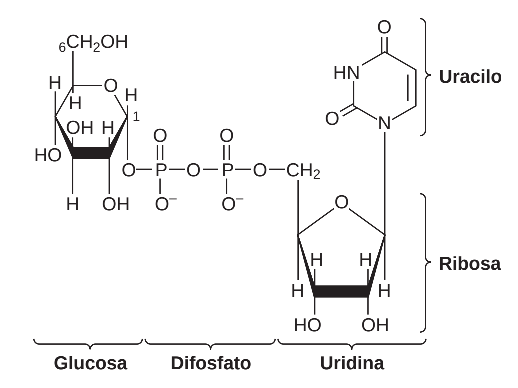


FIGURA 19-2 Uridina difosfato glucosa (UDPGlc).

Glucógeno (unidades 1 → 4 y 1 → 6 glucosilo)$_x$
Enzima ramificadora
P_i
(Unidades 1 → 4 glucosilo)$_x$
Insulina
UDP
Glucógeno sintasa
cAMP
Glucógeno fosforilasa
Preparador de glucógeno
Glucagon epinefrina
Glucano transferasa *
Enzima desramificadora
Glucogenina
Uridina difosfato glucosa (UDPGlc)
Hacia la vía del ácido urónico
Glucosa libre proveniente de la enzima desramificadora
Pirofosfatasa inorgánica
UDPGlc pirofosforilasa
PP_i
2 P_i
UDP
Uridina trifosfato (UTP)
Glucosa 1-fosfato
Mg^{2+}
Fosfoglucomutasa
Glucosa 6-fosfatasa
Hacia glucólisis y la vía de la pentosa fosfato
H_2O
ADP
ATP
Nucleósido difosfocinasa
ADP
Glucosa-6 fosfatasa
Mg^{2+}
Glucocinasa
P_i
ATP
Glucosa

FIGURA 19-1 Vías de la glucogénesis y la glucogenólisis en el hígado. (⊕ Estimulación; ⊖, inhibición.) La insulina disminuye la concentración de cAMP sólo después de que ha aumentado por glucagon o epinefrina; esto es, antagoniza su acción. El glucagon es activo en el músculo cardiaco, no así en el estriado. *La glucano transferasa y la enzima desramificadora parecen ser dos actividades separadas de la misma enzima.

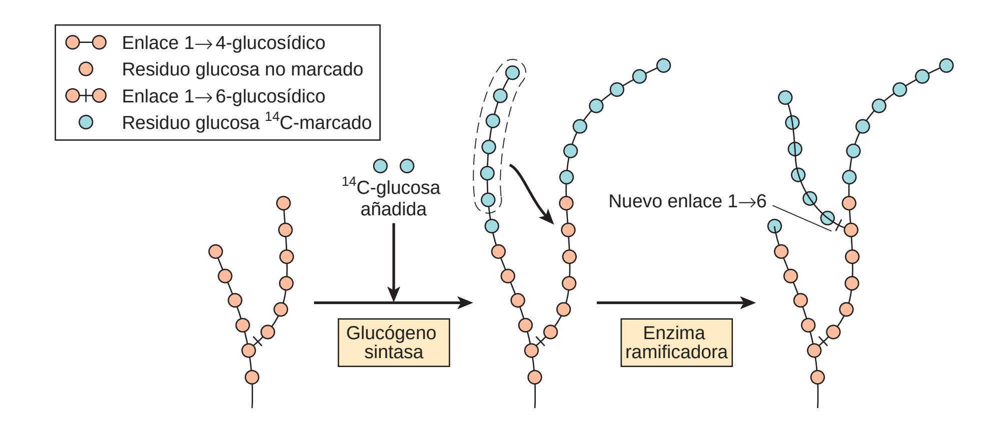


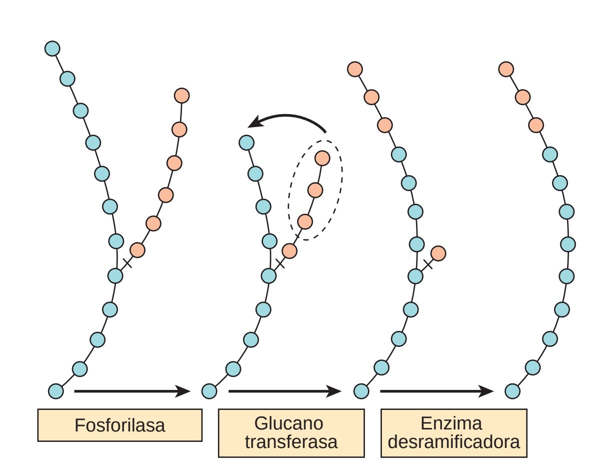
FIGURA 19-3 La biosíntesis de glucógeno. El mecanismo de ramificación según se revela por alimentación con glucosa ^{14}C-marcada, y examen del glucógeno hepático a intervalos.

actividades separadas de una proteína única que tiene dos sitios catalíticos. Entonces puede proceder acción adicional de fosforilasa. La acción combinada de la fosforilasa y estas otras enzimas lleva a la desintegración completa del glucógeno. La reacción catalizada por la fosfoglucomutasa es reversible, de modo que puede formarse glucosa 6-fosfato a partir de glucosa 1-fosfato. En **hígado** (y **riñones**), no así en el músculo, la **glucosa 6-fosfatasa** hidroliza a la glucosa 6-fosfato, lo que da glucosa que se exporta, y lleva a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre. La glucosa 6-fosfatasa está en la luz del retículo endoplásmico liso, y los defectos genéticos del transportador de glucosa 6-fosfato pueden causar una variante de la enfermedad por depósito de glucógeno tipo I (cuadro 19-2).

EL AMP CÍCLICO INTEGRA LA REGULACIÓN DE LA GLUCOGENÓLISIS Y LA GLUCOGÉNESIS

Las principales enzimas que controlan el metabolismo del glucógeno —glucógeno fosforilasa y glucógeno sintasa— están reguladas por mecanismos alostéricos y modi cación covalente por fosforilación y desfosforilación reversibles de proteína enzima en respuesta a la acción hormonal (cap. 9).

La fosforilación está aumentada en respuesta a monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (fig. 19-5) formado a partir del ATP mediante la **adenilil ciclasa** en la superficie interna de membranas celulares en respuesta a hormonas como **epinefrina (adrenalina)**, **norepinefrina (noradrenalina)** y **glucagon**. La **fosfodiesterasa** hidroliza al cAMP y así termina la acción de hormona; en el hígado la insulina aumenta la actividad de la fosfodiesterasa.



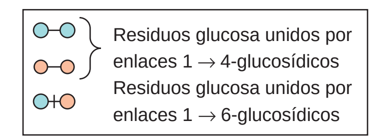


FIGURA 19-4 Pasos en la glucogenólisis.

El control de la fosfodiesterasa difiere entre el hígado y el músculo

La función del glucógeno en el hígado es proporcionar glucosa libre para exportación a n de mantener la concentración de glucosa en la sangre, y en el músculo es proporcionar una fuente de glucosa 6-fosfato para glucólisis en respuesta a la necesidad de ATP para la contracción muscular. En ambos tejidos, la enzima es activada por fosforilación catalizada por la fosforilasa cinasa (para dar fosforilasa a) y desactivada por desfosforilación catalizada por la fosfoproteína fosfatasa (para dar fosforilasa b), en respuesta a señales hormonales y de otros tipos.

Hay anulación instantánea de este control hormonal. La fosforilasa a activa en ambos tejidos es inhibida de manera alostérica por el ATP y la glucosa 6-fosfato; en el hígado, no así en el músculo, la glucosa libre también es un inhibidor. La fosforilasa muscular difiere de la isoenzima hepática por cuanto tiene un sitio de unión para 5′AMP, que actúa como un activador alostérico de la forma b desfosforilada (inactiva) de la enzima. El 5′AMP actúa como una potente señal del estado de energía de la célula muscular; se forma a medida que la concentración de ADP se incrementa (lo que indica la necesidad de metabolismo de sustrato aumentado para permitir la formación de ATP), como resultado de la reacción de adenilato cinasa: 2 × ADP ↔ ATP + 5′AMP.

El cAMP activa la fosforilasa

La fosforilasa cinasa es activada en respuesta al cAMP (g. 19-6). El incremento de la concentración de cAMP activa a la **proteína cinasa dependiente de cAMP**, que cataliza la fosforilación por ATP de **fosforilasa cinasa b** inactiva hacia **fosforilasa cinasa a** activa, que, a su vez, fosforila a la fosforilasa b hacia fosforilasa a. En el hígado, el cAMP se forma en respuesta a glucagon, que se secreta en respuesta

CUADRO 19-2 Enfermedades por depósito de glucógeno

Tipo	Nombre	Deficiencia de enzima	Datos clínicos
0	—	Glucógeno sintasa	Hipoglucemia; hipercetonemia; muerte temprana
Ia	Enfermedad de von Gierke	Glucosa 6-fosfatasa	Acumulación de glucógeno en hígado y en células de túbulos renales; hipoglucemia; acidemia láctica; cetosis; hiperlipidemia
Ib	—	Transportador de glucosa 6-fosfato en el retículo endoplásmico	Igual que el tipo Ia; neutropenia y función de neutrófilos alterada, que lleva a infecciones recurrentes
II	Enfermedad de Pompe	α1 → 4 y α1 → 6 glucosidasa (maltasa ácida) lisosómica	Acumulación de glucógeno en lisosomas: variante de inicio juvenil, hipotonía muscular, muerte por insuficiencia cardiaca hacia los dos años de edad; variante de inicio en el adulto, distrofia muscular
IIIa	Dextrinosis límite, enfermedad de Forbe o de Cori	Enzima desramificadora en hígado y músculo	Hipoglucemia en ayuno, hepatomegalia durante la lactancia; acumulación de polisacárido ramificado característico (dextrina límite); debilidad muscular
IIIb	Dextrinosis límite	Enzima desramificadora en hígado	Igual que el tipo IIIa, pero sin debilidad muscular
IV	Amilopectinosis, enfermedad de Andersen	Enzima ramificadora	Hepatosplenomegalia; acumulación de polisacárido con pocos puntos de ramificación; muerte por insuficiencia cardiaca o hepática antes de los 5 años de edad
V	Deficiencia de mielofosforilasa, síndrome de McArdle	Fosforilasa muscular	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de hacer ejercicio
VI	Enfermedad de Hers	Fosforilasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en hígado; hipoglucemia leve, pronóstico en general bueno
VII	Enfermedad de Tarui	Fosfofructocinasa 1 muscular y de eritrocitos	Poca tolerancia al ejercicio; glucógeno muscular anormalmente alto (2.5 a 4%); lactato en sangre muy bajo después de hacer ejercicio; también anemia hemolítica
VIII		Fosforilasa cinasa hepática	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en hígado; hipoglucemia leve, por lo general buen pronóstico
IX		Fosforilasa cinasa hepática y muscular	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en hígado y músculo; hipoglucemia leve; pronóstico en general bueno
X		Proteína cinasa A dependiente de cAMP	Hepatomegalia; acumulación de glucógeno en hígado

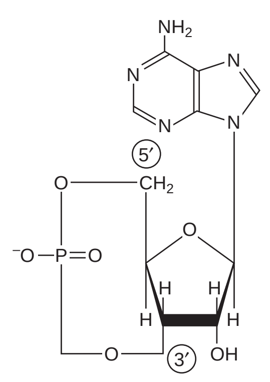


FIGURA 19-5 Ácido 3',5'-adenílico (AMP cíclico; cAMP).

a disminución de la glucosa en la sangre. El músculo es insensible al glucagon; en el músculo, la señal para el aumento de la formación de cAMP es la acción de la norepinefrina, que se secreta en respuesta a miedo o susto, cuando hay necesidad de incremento de la glucogenólisis para permitir actividad muscular rápida.

El Ca^{2+} sincroniza la activación de la fosforilasa con la contracción muscular

La glucogenólisis en el músculo aumenta varios cientos de veces al principio de la contracción; la misma señal (aumento de la concentración de ion Ca^{2+} citosólico) es la causa del inicio tanto de contracción como de glucogenólisis. La fosforilasa cinasa muscular, que activa a la glucógeno fosforilasa, es un tetrámero de cuatro subunidades, α, β, γ y δ. Las subunidades α y β contienen residuos serina que son fosforilados por la proteína cinasa dependiente de cAMP. La subunidad δ es idéntica a la proteína de unión a Ca^{2+} **calmodulina** (cap. 42), y se une a cuatro Ca^{2+}. La unión de Ca^{2+} activa el sitio catalítico de la subunidad γ incluso mientras la enzima se encuentra en estado b desfosforilado; la forma fosforilada a sólo está por completo activada en presencia de concentraciones altas de Ca^{2+}.

La glucogenólisis en el hígado puede ser independiente de cAMP

En el hígado, hay activación independiente de cAMP de la glucogenólisis en respuesta a estimulación de receptores α_1 **adrenérgicos** por epinefrina y norepinefrina. Esto comprende la movilización de Ca^{2+} hacia el citosol, seguida por estimulación de una **fosforilasa**

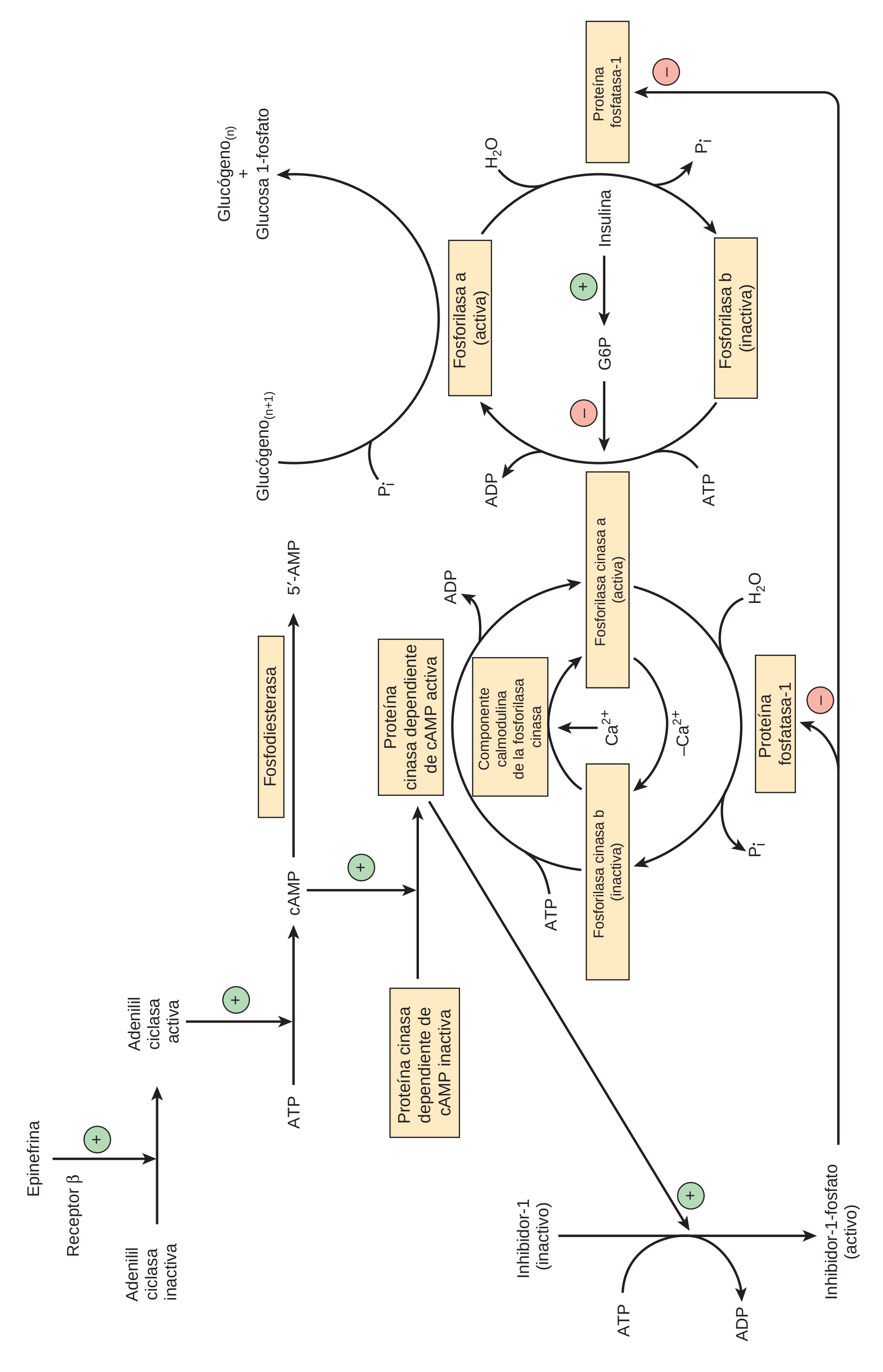


FIGURA 19-6 Control de la fosforilasa en el músculo. La secuencia de reacciones dispuesta como una cascada permite la amplificación de la señal hormonal en cada paso (n, número de residuos glucosa; G6P, glucosa 6-fosfato).

cinasa sensible a Ca^{2+}/calmodulina. La glucogenólisis independiente de cAMP también es activada por vasopresina, oxitocina y angiotensina II que actúan por medio de la vía del calcio o del fosfatidilinositol bisfosfato (g. 42-10).

La proteína fosfatasa-1 desactiva a la fosforilasa

La **proteína fosfatasa-1** desfosforila y desactiva tanto a la fosforilasa a como la fosforilasa cinasa a. La proteína fosfatasa-1 es inhibida por una proteína, **inhibidor-1**, que sólo se activa después de que la proteína cinasa dependiente de cAMP la ha fosforilado. De este modo, el cAMP controla tanto la activación como la desactivación de la fosforilasa (g. 19-6). La **insulina** refuerza este efecto al inhibir la activación de la fosforilasa b. Hace esto de manera indirecta al aumentar la captación de glucosa, lo que lleva a incremento de la formación de glucosa 6-fosfato, que es un inhibidor de la fosforilasa cinasa.

Las actividades de la glucógeno sintasa y de la fosforilasa están reguladas de manera recíproca

Al igual que la fosforilasa, la glucógeno sintasa existe en estados tanto fosforilado como no fosforilado, y el efecto de la fosforilación es el inverso de lo que se observa en la fosforilasa (g. 19-7). La **glucógeno sintasa a** activa es desfosforilada, y la **glucógeno sintasa b** inactiva es fosforilada.

Seis proteína cinasas actúan sobre la glucógeno sintasa. Dos son dependientes de Ca^{2+}/calmodulina (una de éstas es la fosforilasa cinasa). Otra cinasa es la proteína cinasa dependiente de cAMP, que permite que la acción hormonal mediada por cAMP inhiba la síntesis de glucógeno de manera sincrónica con la activación de la glucogenólisis. La insulina también promueve la glucogénesis en el músculo al mismo tiempo que inhibe la glucogenólisis al aumentar la concentración de glucosa 6-fosfato, que estimula la desfosforilación y activación de la glucógeno sintasa. La proteína fosfatasa-1, que está bajo el control de la proteína cinasa dependiente de cAMP, desfosforila a la glucógeno sintasa b.

UN EQUILIBRIO DE LAS ACTIVIDADES ENTRE LA GLUCÓGENO SINTASA Y LA FOSFORILASA REGULA EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO

Al mismo tiempo que la fosforilasa es activada por un aumento de la concentración de cAMP (por medio de la fosforilasa cinasa), la glucógeno sintasa es convertida en la forma inactiva; ambos efectos están mediados por la **proteína cinasa dependiente de cAMP** (g.

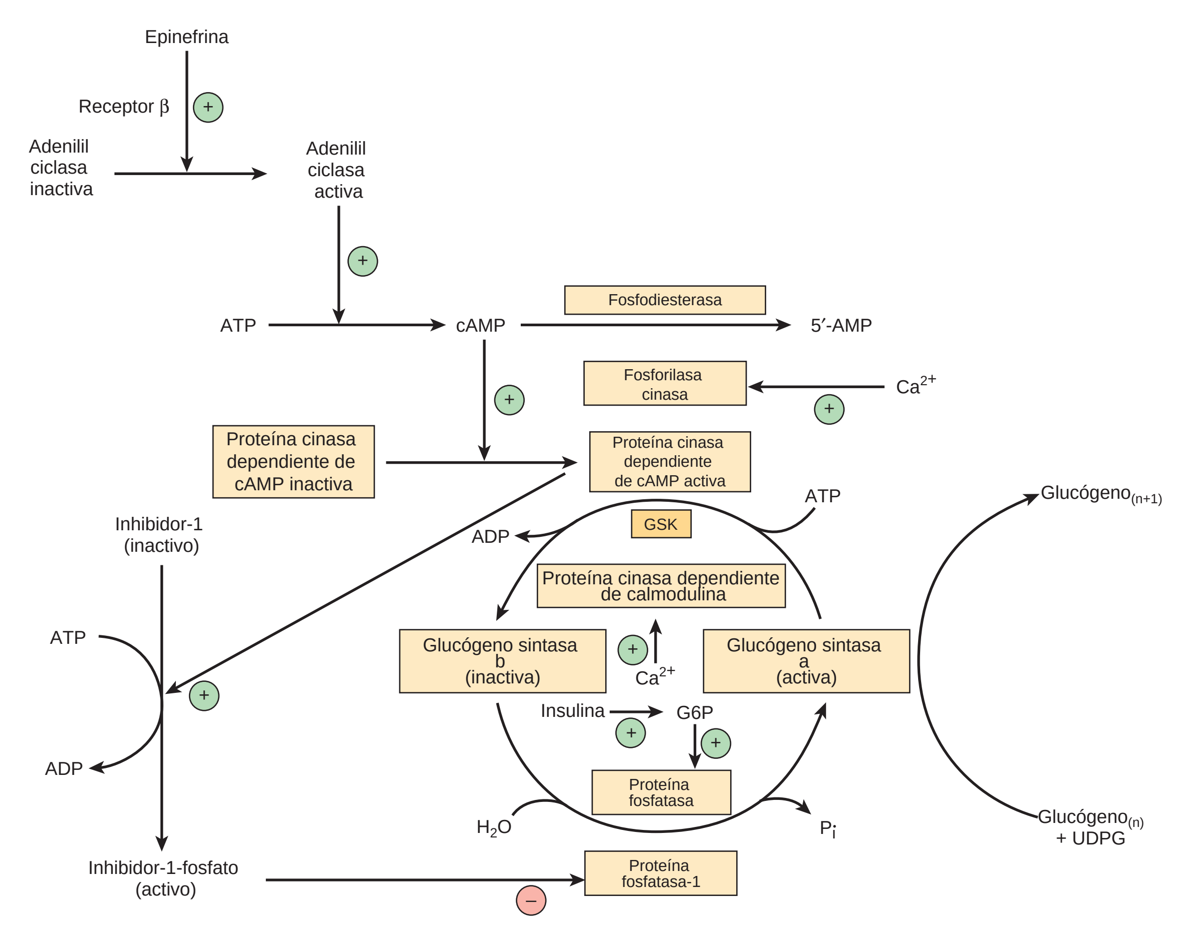


FIGURA 19-7 Control de la glucógeno sintasa en el músculo (n, número de residuos glucosa; GSK, glucógeno sintasa cinasa; G6P, glucosa 6-fosfato).

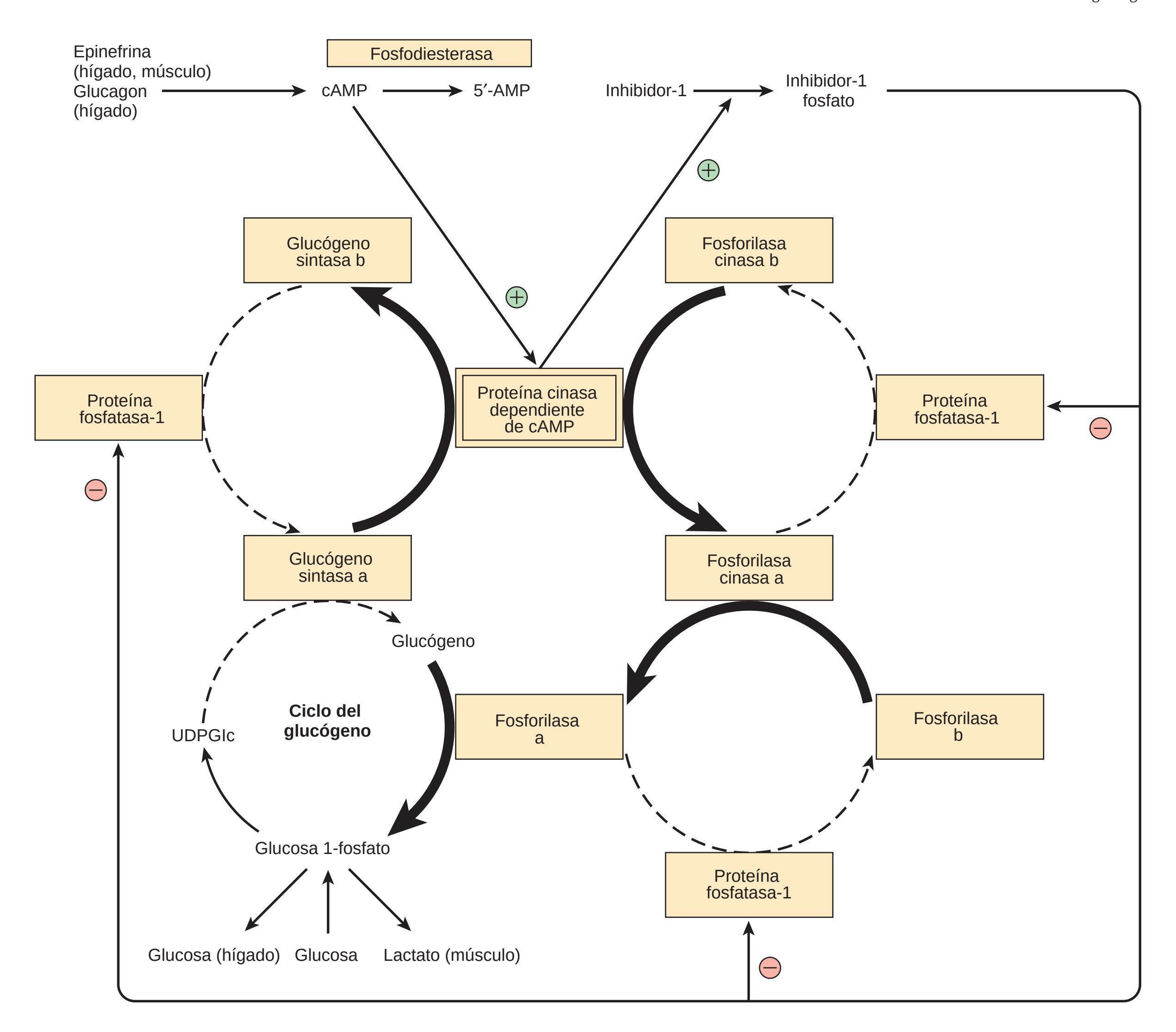


FIGURA 19-8 Control coordinado de la glucogenólisis y la glucogénesis mediante la proteína cinasa dependiente de cAMP. Las reacciones que llevan a glucogenólisis como resultado de un aumento de las concentraciones de cAMP se muestran con flechas gruesas, y las que son inhibidas por la activación de la proteína fosfatasa-1, con flechas discontinuas. Sucede lo inverso cuando las concentraciones de cAMP disminuyen como resultado de la actividad de fosfodiesterasa, lo que lleva a glucogénesis.

19-8). De este modo, la inhibición de la glucogenólisis aumenta la glucogénesis neta, y la inhibición de la glucogénesis aumenta la glucogenólisis neta. Asimismo, la desfosforilación de la fosforilasa a, fosforilasa cinasa y glucógeno sintasa b es catalizada por una enzima única con especi cidad amplia, la **proteína fosfatasa-1**. A su vez, esta última es inhibida por la proteína cinasa dependiente de cAMP por medio del inhibidor-1. De este modo, la glucogenólisis puede terminar, y la glucogénesis puede ser estimulada, o viceversa, de manera sincrónica, porque ambos procesos son dependientes de la actividad de la proteína cinasa dependiente de cAMP. Cinasas y fosfatasas separadas pueden fosforilar de manera reversible en más de un sitio tanto la fosforilasa cinasa como la glucógeno sintasa. Estas fosforilaciones secundarias modi can la sensibilidad de los sitios primarios a la fosforilación y desfosforilación **(fosforilación de múltiples sitios)**. Asimismo, permiten que la insulina, por medio de un incremento de la glucosa 6-fosfato, tenga efectos que actúan de manera recíproca a los del cAMP (gs. 19-6 y 19-7).

ASPECTOS CLÍNICOS

Las enfermedades por depósito de glucógeno son hereditarias

"Enfermedad por depósito de glucógeno" es un término genérico empleado para describir un grupo de trastornos hereditarios caracterizados por depósito de un tipo o cantidad anormal de glucógeno en los tejidos, o fracaso de la movilización de glucógeno. Las principales enfermedades se resumen en el cuadro 19-2.

RESUMEN

- El glucógeno representa el principal carbohidrato de almacenamiento en el cuerpo, sobre todo en el hígado y el músculo.
- En el hígado, su importante función es proporcionar glucosa para tejidos extrahepáticos. En el músculo, sirve sobre todo como una

fuente fácil de combustible metabólico para uso en el músculo. El músculo carece de glucosa 6-fosfatasa y no puede liberar la glucosa libre a partir del glucógeno.

- El glucógeno se sintetiza a partir de la glucosa mediante la vía de la glucogénesis. Se desintegra mediante una vía separada, la glucogenólisis.
- El cAMP integra la regulación de la glucogenólisis y la glucogénesis mediante promover la activación de la fosforilasa y la inhibición de la glucógeno sintasa en forma simultánea. La insulina actúa de manera recíproca al inhibir la glucogenólisis y estimular la glucogénesis.
- Las de ciencias hereditarias de las enzimas del metabolismo del glucógeno tanto en el hígado como en el músculo causan enfermedades por depósito de glucógeno.

REFERENCIAS

Bollen M, Keppens S, Stalmans W: Specific features of glycogen metabolism in the liver. Biochem J 1998;336:19.

Ferrer JC, Favre C, Gomis RR, Fernandez-Novell JM, Garcia-Rocha M, de la Iglesia N, Cid E, Guinovart JJ: Control of glycogen deposition. FEBS Lett 2003;546:127.

Forde JE, Dale TC: Glycogen synthase kinase 3: a key regulator of cellular fate. Cell Mol Life Sci 2007;64:1930.

Greenberg CC, Jurczak MJ, et al: Glycogen branches out: new perspectives on the role of glycogen metabolism in the integration of metabolic pathways. Am J Physiol Endocrinol Metab 2006;291:E1.

Jentjens R, Jeukendrup A: Determinants of post-exercise glycogen synthesis during short-term recovery. Sports Med 2003;33:117.

McGarry JD, Kuwajima M, Newgard CB, Foster DW, Katz J: From dietary glucose to liver glycogen: the full circle round. Annu Rev Nutr 1987;7:51.

Meléndez-Hevia E, Waddell TG, Shelton ED: Optimization of molecular design in the evolution of metabolism: the glycogen molecule. Biochem J 1993;295:477.

Ozen H: Glycogen storage diseases: new perspectives. World J Gastroenterol 2007;13:2541.

Radziuk J, Pye S: Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. Diabetes Metab Res Rev 2001;17(4):250.

Roach PJ: Glycogen and its metabolism. Curr Mol Med 2002;2(2):101.

Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.

Shearer J, Graham TE: New perspectives on the storage and organization of muscle glycogen. Can J Appl Physiol 2002;27:179.

Shin YS: Glycogen storage disease: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. Semin Pediatr Neurol 2006;13:115.

Wolfsdorf JI, Holm IA: Glycogen storage diseases. Phenotypic, genetic, and biochemical characteristics, and therapy. Endocrinol Metab Clin North Am 1999;28:801.

Yeaman SJ, Armstrong JL, et al: Regulation of glycogen synthesis in human muscle cells. Biochem Soc Trans 2001;29:537.

CAPÍTULO

20

Gluconeogénesis y control de la glucosa en sangre

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o glucógeno a partir de precursores no carbohidratos. Los principales sustratos son los aminoácidos glucogénicos (cap. 29), el lactato, el glicerol y el propionato. El hígado y los riñones son los principales tejidos gluconeogénicos, pero el intestino delgado también puede ser una fuente de glucosa en el estado de ayuno.

La gluconeogénesis satisface las necesidades de glucosa del cuerpo cuando los carbohidratos disponibles a partir de la dieta o de las reservas de glucógeno son insuficientes. Se requiere un aporte de glucosa en especial para el sistema nervioso y los eritrocitos. La falla en la gluconeogénesis por lo general es mortal. La **hipoglucemia** causa disfunción cerebral, lo que puede conducir a coma y muerte. La glucosa también tiene importancia en el mantenimiento de la concentración de intermediarios del ciclo del ácido cítrico aun cuando los ácidos grasos son la principal fuente de acetil-CoA en los tejidos. Además, la gluconeogénesis elimina lactato producido por los músculos y los eritrocitos, y glicerol producido por el tejido adiposo. En rumiantes, el propionato es un producto del metabolismo de los carbohidratos en el rumen, y es un sustrato importante para la gluconeogénesis.

LA GLUCONEOGÉNESIS INVOLUCRA GLUCÓLISIS, EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO, MÁS ALGUNAS REACCIONES ESPECIALES

Las barreras termodinámicas impiden una reversión simple de la glucólisis

Tres reacciones que no están en equilibrio en la glucólisis (cap. 18), catalizadas por hexocinasa, fosfofructocinasa y piruvato cinasa, impiden la reversión simple de la glucólisis para la síntesis de glucosa (g. 20-1); tales reacciones se esquivan de las siguientes maneras.

Piruvato y fosfoenolpiruvato

La reversión de la reacción catalizada por la piruvato cinasa en la glucólisis involucra dos reacciones endotérmicas. La **piruvato carboxilasa** mitocondrial cataliza la carboxilación de piruvato hacia oxaloacetato, una reacción que necesita ATP en la cual la vitamina biotina es la coenzima. La biotina se une al CO_2 proveniente de bicarbonato como carboxibiotina antes de la unión del CO_2 al piruvato (g. 44-17). Una segunda enzima, la **fosfoenolpiruvato carboxicinasa**, cataliza la descarboxilación y fosforilación de oxaloacetato hacia fosfoenolpiruvato usando GTP como el donador de fosfato. En hígado y riñones, la reacción de la succinato tiocinasa en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17) produce GTP (en lugar de ATP como en otros tejidos), y este GTP se usa para la reacción de fosfoenolpiruvato carboxicinasa, lo que proporciona un enlace entre la actividad del ciclo del ácido cítrico y la gluconeogénesis, con el n de prevenir la eliminación excesiva de oxaloacetato para gluconeogénesis, lo que alteraría la actividad del ciclo del ácido cítrico.

Fructosa 1,6-bisfosfato y fructosa 6-fosfato

La **fructosa 1,6-bisfosfatasa** cataliza la conversión de fructosa 1,6-bisfosfato en fructosa 6-fosfato, para la reversión de la glucólisis. Su presencia determina si un tejido tiene la capacidad para sintetizar glucosa (o glucógeno) no sólo a partir de piruvato, sino también a partir de triosas fosfato. Se encuentra presente en el hígado, los riñones y el músculo estriado, pero probablemente falta en el corazón y el músculo liso.

Glucosa 6-fosfato y glucosa

La **glucosa 6-fosfatasa** cataliza la conversión de glucosa 6-fosfato en glucosa. Dicha enzima está presente en hígado y riñones, pero falta en el músculo y el tejido adiposo, que, en consecuencia, no pueden exportar glucosa hacia el torrente sanguíneo.

Glucosa 1-fosfato y glucógeno

La fosforilasa cataliza la desintegración de glucógeno hacia glucosa 1-fosfato. La síntesis de glucógeno comprende una vía diferente por medio de la uridina difosfato glucosa y la **glucógeno sintasa** (g. 19-1).

En la figura 20-1 se muestran las relaciones entre gluconeogénesis y la vía glucolítica. Luego de transaminación o desaminación, los aminoácidos glucogénicos dan piruvato o intermediarios del ciclo del ácido cítrico. Por ende, las reacciones antes descritas pueden explicar la conversión tanto de lactato como de aminoácidos glucogénicos en glucosa o glucógeno.

El propionato es un precursor importante de la glucosa en rumiantes; entra en la gluconeogénesis por medio del ciclo del ácido cítrico. Después de su esterificación con CoA, la propionil-CoA es carboxilada hacia d-metilmalonil-CoA, catalizado por la **propionil-CoA carboxilasa**, una enzima dependiente de biotina (fig. 20-2). La **metilmalonil-CoA racemasa** cataliza la conversión de d-metilmalonil-CoA en l-metilmalonil-CoA, que luego pasa por isomerización hacia succinil-CoA, catalizada por la **metilmalonil-CoA mu-**

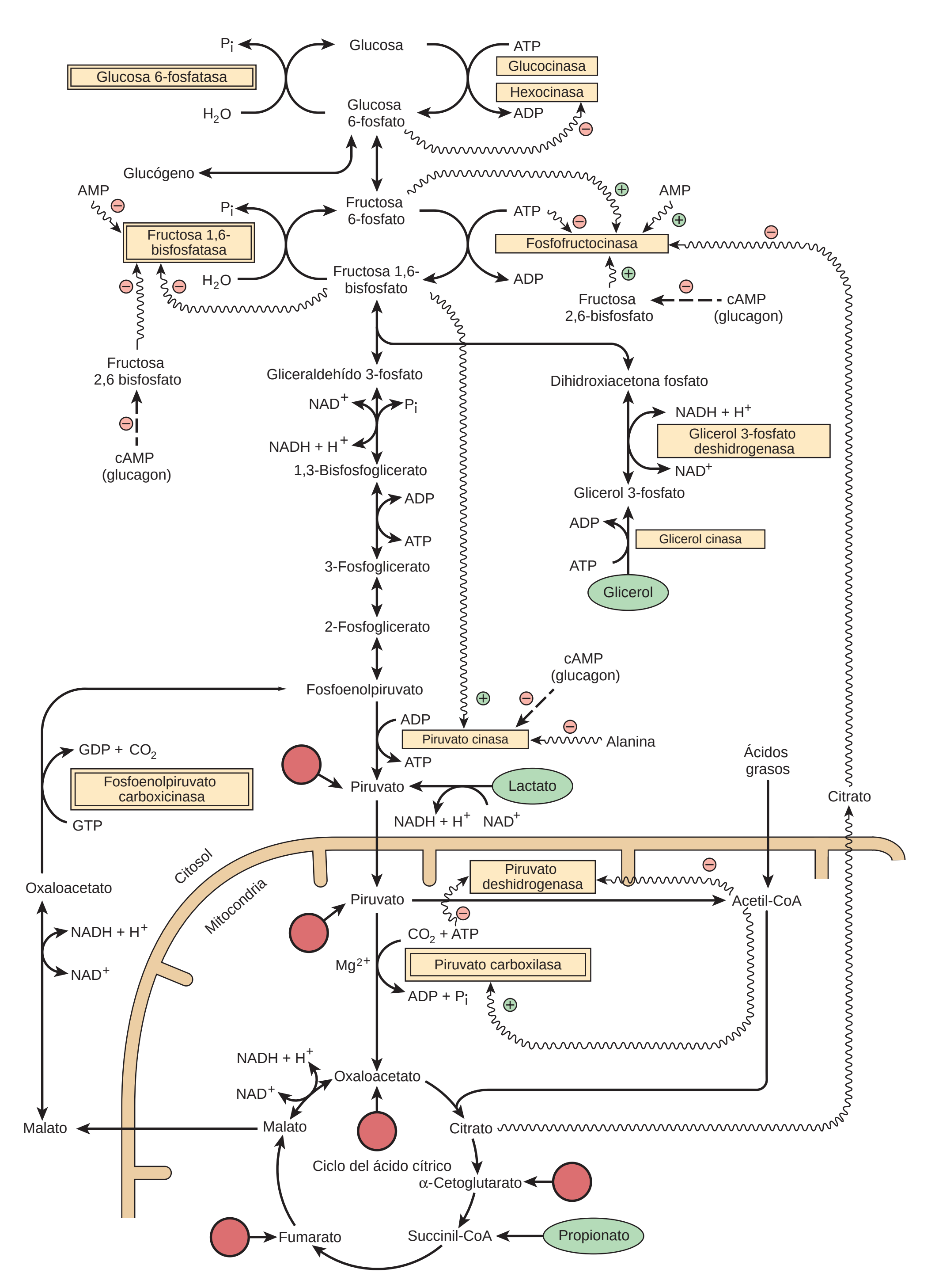


FIGURA 20-1 Principales vías y regulación de la gluconeogénesis y glucólisis en el hígado. Los puntos de entrada de aminoácidos glucogénicos luego de la transaminación están indicados por flechas que se extienden desde círculos (véase también la fig. 17-4). Las enzimas gluconeogénicas clave están encerradas en cuadros con doble marco. El ATP requerido para la gluconeogénesis se obtiene mediante la oxidación de ácidos grasos. El propionato sólo tiene importancia cuantitativa en rumiantes. Las flechas onduladas significan efectos alostéricos; las flechas discontinuas, modificación covalente por fosforilación reversible. Las altas concentraciones de alanina actúan como una "señal gluconeogénica" al inhibir la glucólisis en el paso de la piruvato cinasa.

tasa. En no rumiantes, incluso seres humanos, el propionato surge a partir de la β-oxidación de ácidos grasos de cadena impar que se encuentran en lípidos de rumiante (cap. 22), así como la oxidación de isoleucina y de la cadena lateral de colesterol, y es un sustrato (relativamente menor) para la gluconeogénesis. La metilmalonil-CoA mutasa es una enzima dependiente de vitamina B_{12}, y en su

deficiencia se excreta el ácido metilmalónico en la orina **(aciduria metilmalónica)**.

El glicerol se libera a partir del tejido adiposo como resultado de lipólisis de los triacilgliceroles de las lipoproteínas en el estado posprandial; puede usarse para reesterificación de ácidos grasos libres como triacilglicerol en el tejido adiposo o el hígado, o puede ser un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado. En el estado de ayuno el glicerol liberado a partir de la lipólisis del triacilglicerol del tejido adiposo se usa únicamente como un sustrato para la gluconeogénesis en el hígado y los riñones.

DADO QUE LA GLUCÓLISIS Y LA GLUCONEOGÉNESIS COMPARTEN LA MISMA VÍA PERO EN DIRECCIONES OPUESTAS, ES NECESARIO QUE SE REGULEN DE MODO RECÍPROCO

Los cambios de la disponibilidad de sustratos son la causa de la mayor parte de las modificaciones del metabolismo al actuar de manera directa o indirecta por medio de variaciones de la secreción de hormona. Tres mecanismos se encargan de regular la actividad de enzimas vinculadas con el metabolismo de carbohidratos: 1) cambios en la velocidad de síntesis de enzima; 2) modificación covalente por medio de fosforilación reversible, y 3) efectos alostéricos.

La inducción y represión de enzimas clave requiere varias horas

El cuadro 20-1 lista los cambios de la actividad enzimática en el hígado que ocurren en diversos estados metabólicos. Las enzimas involucradas catalizan reacciones no en equilibrio (irreversibles desde el punto de vista fisiológico). Los efectos por lo común se refuerzan porque la actividad de las enzimas que catalizan las reacciones en la dirección opuesta varía de modo recíproco (fig. 20-1). Las enzimas comprendidas en la utilización de glucosa (es decir, las de la glucólisis y la lipogénesis) se tornan más activas cuando hay superfluidez de glucosa, y en estas condiciones las enzimas de la gluconeogénesis tienen actividad baja. La insulina, misma que es secretada en respuesta a glucosa sanguínea aumentada, incrementa la síntesis de las enzimas clave en la glucólisis. También antagoniza el efecto de los glucocorticoides y del aumento del cAMP por glucagon, lo que induce la síntesis de las enzimas clave de la gluconeogénesis.

La modificación covalente por medio de fosforilación reversible es rápida

El **glucagon** y la **epinefrina**, hormonas de las cuales depende una disminución de la glucosa en la sangre, inhiben la glucólisis y estimulan la gluconeogénesis en el hígado al aumentar la concentración de cAMP. Esto, a su vez, activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP, lo que da pie a la fosforilación y desactivación de la **piruvato cinasa**. Asimismo, afectan las cifras de la fructosa 2,6-bisfosfato y, por consiguiente, la glucólisis y la gluconeogénesis (véase más adelante).

La modificación alostérica es instantánea

En la gluconeogénesis, la piruvato carboxilasa, que cataliza la síntesis de oxaloacetato a partir de piruvato, necesita acetil-CoA como un **activador alostérico**. La adición de acetil-CoA suscita un cambio de la estructura terciaria de la proteína, lo que origina decremento de la K_m para bicarbonato. Esto significa que a medida que se forma acetil-CoA a partir de piruvato, asegura de manera automática el suministro de oxaloacetato y, por tanto, su oxidación adicional en el ciclo del ácido cítrico, al activar a la piruvato carboxilasa. La activación de esta última, y la inhibición recíproca de piruvato deshidrogenasa por la acetil-CoA derivada de la oxidación de ácidos grasos, explican la acción de la oxidación de ácidos grasos en la limitación de la oxidación de piruvato y la estimulación de la gluconeogénesis. La relación recíproca entre estas dos enzimas altera el

FIGURA 20-2 Metabolismo del propionato.

CUADRO 20-1 Enzimas reguladoras y adaptativas relacionadas con el metabolismo de carbohidratos

	Actividad en					
	Alimentación con carbohidratos	**Ayuno y diabetes**	**Inductor**	**Represor**	**Activador**	**Inhibidor**
Glucogenólisis, glucólisis y oxidación de piruvato						
Glucógeno sintasa	↑	↓			Insulina, glucosa 6-fosfato	Glucagon
Hexocinasa						Glucosa 6-fosfato
Glucocinasa	↑	↓	Insulina	Glucagon		
Fosfofructocinasa-1	↑	↓	Insulina	Glucagon	5′AMP, fructosa 6-fosfato, fructosa 2,6-bisfosfato, P_i	Citrato, ATP, glucagon
Piruvato cinasa	↑	↓	Insulina, fructosa	Glucagon	Fructosa 1,6-bisfosfato, insulina	ATP, alanina, glucagon, norepinefrina
Piruvato deshidrogenasa	↑	↓			CoA, NAD^+, insulina, ADP, piruvato	Acetil CoA, NADH, ATP (ácidos grasos, cuerpos cetónicos)
Gluconeogénesis						
Piruvato carboxilasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagon, epinefrina	Insulina	Acetil CoA	ADP
Fosfoenolpiruvato carboxicinasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagon, epinefrina	Insulina	¿Glucagon?	
Glucosa 6-fosfatasa	↓	↑	Glucocorticoides, glucagon, epinefrina	Insulina		

destino metabólico del piruvato a medida que el tejido cambia desde la oxidación de carbohidratos (glucólisis) hacia gluconeogénesis en el transcurso de la transición desde el estado posprandial hacia el de ayuno (g. 20-1). Una función importante de la oxidación de ácidos grasos en la promoción de la gluconeogénesis es suministrar el ATP requerido.

La **fosfofructocinasa (fosfofructocinasa-1)** ocupa una posición clave en la regulación de la glucólisis, y queda sujeta también a control por retroalimentación. Es inhibida por citrato y por concentraciones intracelulares normales de ATP, y activada por el 5′AMP. Este último actúa como un indicador del estado energético de la célula. La presencia de **adenilil cinasa** en el hígado y muchos otros tejidos permite el equilibrio rápido de la reacción

$$2ADP \leftrightarrow ATP + 5'AMP$$

Así, cuando se usa ATP en procesos que requieren energía, lo que da por resultado formación de ADP, el [AMP] aumenta. Una disminución hasta cierto punto pequeña del [ATP] causa un incremento de varias veces del [AMP], de modo que este último actúa como un ampli cador metabólico de un cambio pequeño de [ATP] y, en consecuencia, una señal sensible del estado energético de la célula. De esta manera, la actividad de la fosfofructocinasa-1 está regulada en respuesta al estado energético de la célula para controlar la cantidad de carbohidrato que está pasando por glucólisis antes de su entrada hacia el ciclo del ácido cítrico. De modo simultáneo, el AMP activa a la fosforilasa, lo que aumenta la glucogenólisis. Una consecuencia de la inhibición de la fosfofructocinasa-1 es una acumulación de glucosa 6-fosfato que, a su vez, inhibe la captación adicional de glucosa en tejidos extrahepáticos mediante inhibición de la hexocinasa μ.

La fructosa 2,6-bisfosfato desempeña una función singular en la regulación de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado

La **fructosa 2,6-bisfosfato** es el más potente activador alostérico positivo de la fosfofructocinasa-1, e inhibidor de la fructosa 1,6-bisfosfatasa en el hígado. Alivia la inhibición de la fosfofructocinasa-1 por el ATP, y aumenta la a nidad por la glucosa 6-fosfato. Inhibe la fructosa 1,6-bisfosfatasa al incrementar la K_m para la fructosa 1,6-bisfosfato. Sus cifras están bajo control tanto de sustrato (alostérico) como hormonal (modi cación covalente) (g. 20-3).

La fructosa 2,6-bisfosfato se forma por fosforilación de la fructosa 6-fosfato por la **fosfofructocinasa-2**. La misma proteína enzima también se encarga de su degradación, porque tiene actividad de **fructosa 2,6-bisfosfatasa**. Esta **enzima bifuncional** tiene el control

alostérico de la fructosa 6-fosfato, que estimula a la cinasa e inhibe a la fosfatasa. Por ende, cuando hay aporte abundante de glucosa, aumenta la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que estimula la glucólisis al activar a la fosfofructocinasa-1 e inhibir a la fructosa 1,6-bisfosfatasa. En estado de ayuno, el glucagon estimula la producción de cAMP, lo que activa a la proteína cinasa dependiente de cAMP que, a su vez, desactiva a la fosfofructocinasa-2 y activa a la fructosa 2,6-bisfosfatasa por medio de fosforilación. Por consiguiente, la gluconeogénesis es estimulada por un decremento de la concentración de fructosa 2,6-bisfosfato, lo que inactiva a la fosfofructocinasa-1 y elimina la inhibición de fructosa 1,6-bisfosfatasa.

Los ciclos de sustrato (inútiles) permiten ajuste fino y respuesta rápida

Los puntos de control en la glucólisis y el metabolismo del glucógeno incluyen un ciclo de fosforilación y desfosforilación catalizado por la glucocinasa y la glucosa 6-fosfatasa; la fosfofructocinasa-1 y la fructosa 1,6-bisfosfatasa; la piruvato cinasa, piruvato carboxilasa y fosfoenolpiruvato carboxicinasa, y la glucógeno sintasa y fosforilasa. Parecería obvio que estas enzimas que se oponen están reguladas de tal manera que cuando las que participan en la glucólisis están activas, las que lo hacen en la gluconeogénesis están inactivas, porque de otro modo estarían pasando por ciclos entre intermediarios fosforilados y no fosforilados, con hidrólisis neta de ATP. Aun cuando esto es así, en el músculo tanto la fosfofructocinasa como la fructosa 1,6-bisfosfatasa tienen cierta actividad en todo momento, de manera que en realidad hay cierta medida de paso por ciclos de desecho (inútiles). Esto permite el aumento muy rápido del índice de glucólisis necesario para la contracción muscular. En reposo el índice de actividad de fosfofructocinasa es alrededor de 10 veces más alto que el de la fructosa 1,6-bisfosfatasa; en anticipación de contracción muscular, la actividad de ambas enzimas aumenta, la de fructosa 1,6-bisfosfatasa 10 veces más que la de la fosfofructocinasa, lo que mantiene el mismo índice neto de glucólisis. Al principio de la contracción muscular, la actividad de la fosfofructocinasa aumenta más, y hay decremento de la de fructosa 1,6-bisfosfatasa, lo que incrementa la velocidad neta de glucólisis (y, por tanto, la formación de ATP) hasta 1 000 veces.

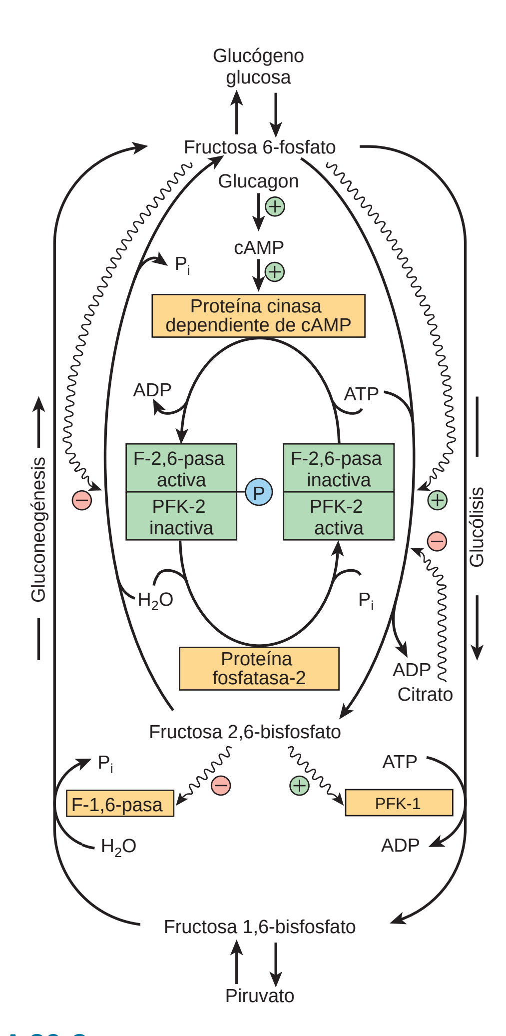


FIGURA 20-3 Control de la glucólisis y la gluconeogénesis en el hígado por medio de la fructosa 2,6-bisfosfato y la enzima bifuncional PFK-2/F-2,6-Pasa (6-fosfofructo-2-cinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa). (PKF-1, fosfofructocinasa-1 [6-fosfofructo-1-cinasa]; F-1,6-Pasa, fructosa 1,6-bisfosfatasa.) Las flechas onduladas indican efectos alostéricos.

LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE GLUCOSA ESTÁ REGULADA DENTRO DE LÍMITES ESTRECHOS

En el estado posterior a la absorción, las cifras de glucosa en la sangre en casi todos los mamíferos se mantienen entre 4.5 y 5.5 mmol/L. Después de la ingestión de una comida de carbohidrato, llegan a aumentar hasta 6.5 a 7.2 mmol/L, y en la inanición, pueden aminorarse hasta 3.3 a 3.9 mmol/L. Una disminución repentina de la glucosa en la sangre (p. ej., en respuesta a sobredosis de insulina) causa convulsiones, debido a la dependencia del cerebro de un aporte de glucosa. Sin embargo, es posible que se toleren concentraciones mucho menores si la hipoglucemia sobreviene con su ciente lentitud como para que haya adaptación. La concentración de glucosa en la sangre en aves es bastante más alta (14.0 mmol/L), y en rumiantes mucho más baja (alrededor de 2.2 mmol/L en ovejas, y 3.3 mmol/L en el ganado vacuno). Estas concentraciones normales más bajas parecen vincularse con el hecho de que los rumiantes fermentan casi todo el carbohidrato de la dieta hacia ácidos grasos de cadena corta, y éstos remplazan en su mayor parte a la glucosa como el principal combustible metabólico de los tejidos en el estado posprandial.

LA GLUCOSA EN SANGRE PROVIENE DE LA DIETA, LA GLUCONEOGÉNESIS Y LA GLUCOGENÓLISIS

La digestión de los carbohidratos de la dieta produce glucosa, galactosa y fructosa que se transportan hacia el hígado mediante la **vena porta hepática**. La galactosa y la fructosa se convierten con facilidad en glucosa en hígado (cap. 21).

La glucosa se forma a partir de dos grupos de compuestos que pasan por gluconeogénesis (figs. 17-4 y 20-1): 1) los que comprenden una conversión neta directa en glucosa, incluso casi todos los

aminoácidos y el **propionato**, y 2) los que son los productos del metabolismo de la glucosa en los tejidos. De este modo, el **lactato**, formado por medio de glucólisis en el músculo estriado y los eritrocitos, se transporta hacia el hígado y los riñones donde vuelve a formar glucosa, la cual de nuevo queda disponible mediante la circulación para oxidación en los tejidos. Este proceso se conoce como el **ciclo de Cori**, o el **ciclo del ácido láctico** (fig. 20-4).

En el estado de ayuno, hay considerable producción de alanina en el músculo estriado, que excede con mucho sus cifras en las proteínas musculares que se están catabolizando. Se forma por transaminación de piruvato producido en la glucólisis de glucógeno muscular, y se exporta hacia el hígado, donde, luego de transaminación de regreso a piruvato, es un sustrato para la gluconeogénesis. Así, este **ciclo de glucosa-alanina** (fig. 20-4) proporciona una manera indirecta de emplear el glucógeno muscular para mantener la glucosa sanguínea en el estado de ayuno. El ATP requerido para la síntesis hepática de glucosa a partir del piruvato proviene de la oxidación de ácidos grasos.

También se forma glucosa a partir del glucógeno hepático mediante glucogenólisis (cap. 19).

Mecanismos metabólicos y hormonales regulan la concentración de glucosa en sangre

El mantenimiento de concentraciones estables de glucosa en sangre es uno de los mecanismos homeostáticos regulados de manera más na, que incluye el hígado, tejidos extrahepáticos y varias hormonas. Las células hepáticas son libremente permeables a la glucosa (por medio del transportador GLUT 2), mientras que las células de los tejidos extrahepáticos (excepto los islotes β pancreáticos) son relativamente impermeables, y sus transportadores de glucosa están regulados por insulina. Como resultado, la captación desde el torrente sanguíneo es el paso limitante en la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. El cuadro 20-2 muestra la función de diversas proteínas transportadoras de glucosa que se encuentran en membranas celulares.

La glucocinasa tiene importancia en la regulación de la glucosa en sangre después de una comida

La hexocinasa tiene una K_m baja para la glucosa, y en el hígado está saturada y actuando a una velocidad constante en todas las condiciones normales. La glucocinasa tiene una K_m mucho más alta (menor a nidad) para la glucosa, de modo que su actividad aumenta con los incrementos de la concentración de glucosa en la vena porta hepática (g. 20-5). Promueve la captación hepática de grandes cantidades de glucosa luego de una comida de carbohidratos. No se encuentra en el hígado de rumiantes, en los cuales entra poca glucosa a la circulación porta desde los intestinos.

A concentraciones normales de glucosa en sangre sistémica (4.5 a 5.5 mmol/L), el hígado es un productor neto de glucosa. Empero, conforme aumentan las cifras de esta última, su producción cesa y hay una captación neta.

La insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en la sangre

Además de los efectos directos de la hiperglucemia en el aumento de la captación de glucosa hacia el hígado, la hormona insulina desempeña una función fundamental en la regulación de la glucosa en la sangre. Se produce en las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas en respuesta a hiperglucemia. Las células β de los islotes son libremente permeables a la glucosa mediante el transportador GLUT 2, y la glucosa es fosforilada por la glucocinasa. En consecuencia, el aumento de la glucosa en la sangre incrementa el ujo metabólico por glucólisis, el ciclo del ácido cítrico, y la generación de ATP. El aumento de [ATP] inhibe los canales de K^+ sensibles a ATP, lo que causa despolarización de la membrana celular; ello incrementa el ujo de entrada de Ca^{2+} por medio de canales del Ca^{2+} sensibles a voltaje, lo que estimula la exocitosis de insulina. De esta manera, la concentración de insulina en sangre corre a la par con la de la glucosa sanguínea. Otras sustancias que suscitan liberación de

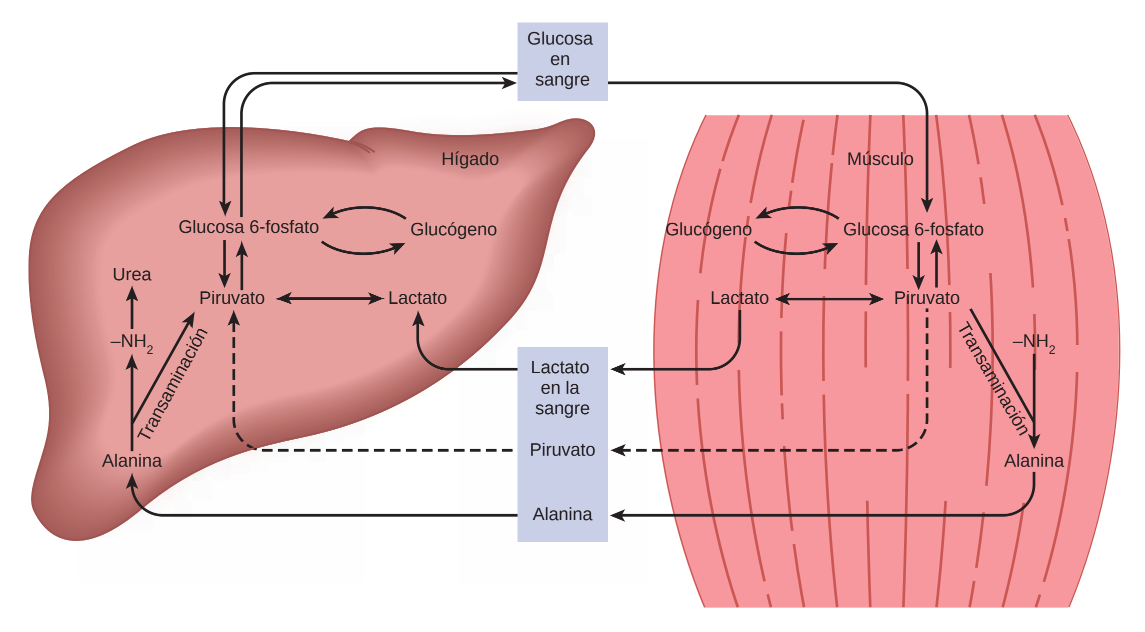


FIGURA 20-4 Los ciclos del ácido láctico (ciclo de Cori) y de la glucosa-alanina.

CUADRO 20-2 Principales transportadores de glucosa

Localización en los tejidos		Funciones
Transportadores bidireccionales facilitadores		
GLUT 1	Cerebro, riñones, colon, placenta, eritrocitos	Captación de glucosa
GLUT 2	Hígado, células β pancreáticas, intestino delgado, riñones	Captación o liberación rápida de glucosa
GLUT 3	Cerebro, riñones, placenta	Captación de glucosa
GLUT 4	Músculo cardiaco y estriado, tejido adiposo	Captación de glucosa estimulada por insulina
GLUT 5	Intestino delgado	Absorción de glucosa
Transportador unidireccional dependiente de sodio		
SGLT 1	Intestino delgado y riñones	Captación activa de glucosa contra un gradiente de concentración

insulina desde el páncreas son aminoácidos, ácidos grasos libres, cuerpos cetónicos, glucagon, secretina y los fármacos de sulfonilurea tolbutamida y gliburida. Estos medicamentos se usan para estimular la secreción de insulina en la diabetes de tipo 2 (diabetes sacarina [mellitus] no insulinodependiente, DMNID); actúan al inhibir los canales de K^+ sensibles a ATP. La epinefrina y la norepinefrina bloquean la liberación de insulina. La insulina produce decremento inmediato de la glucosa en sangre al incrementar el transporte de glucosa hacia el tejido adiposo y el músculo por medio de reclutamiento de transportadores de glucosa (GLUT 4) desde el interior de la célula hacia la membrana plasmática. Si bien no afecta la captación de glucosa hacia el hígado de modo directo, la insulina aumenta la captación a largo plazo como resultado de sus acciones sobre las enzimas que controlan la glucólisis, la glucogénesis y la gluconeogénesis (cap. 19 y cuadro 20-1).

El glucagon se opone a las acciones de la insulina

El glucagon es la hormona producida por las células α de los islotes pancreáticos; su secreción es estimulada por la hipoglucemia. En el hígado estimula la glucogenólisis al activar la fosforilasa. Al contrario de la epinefrina, el glucagon carece de efecto sobre la fosforilasa muscular. El glucagon también aumenta la gluconeogénesis a partir de aminoácidos y lactato. En todas estas acciones, el glucagon actúa por medio de generación de cAMP (cuadro 20-1). Tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis hepáticas contribuyen al **efecto hiperglucemiante** del glucagon, cuyas acciones se oponen a las de la insulina. La mayor parte del glucagon (y de la insulina) endógeno se elimina de la circulación mediante el hígado (cuadro 20-3).

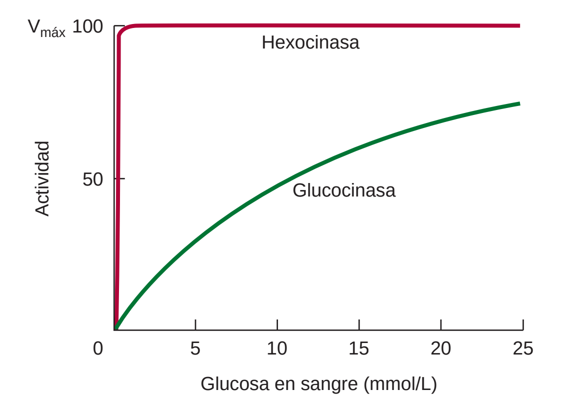


FIGURA 20-5 Variación de la actividad fosforilante de glucosa de la hexocinasa y la glucocinasa con el aumento de la concentración de glucosa en la sangre. La K_m para la glucosa de la hexocinasa es de 0.05 mmol/L, y de la glucocinasa, de 10 mmol/L.

Otras hormonas afectan la glucosa en sangre

La parte **anterior de la hipó sis** secreta hormonas que tienden a aumentar la glucosa en la sangre y, por ende, antagonizan la acción de la insulina. Son la hormona de crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; corticotropina) y quizá otras hormonas "diabetogénicas". La hipoglucemia estimula la secreción de hormona de crecimiento; esta última aminora la captación de glucosa en el músculo. Parte de este efecto puede ser indirecto, porque estimula la movilización de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo, que por sí mismos inhiben la utilización de glucosa. Los **glucocorticoides** (11-oxiesteroides) se secretan por la corteza suprarrenal y son sintetizados también de una manera no regulada en el tejido adiposo. Su acción incrementa la gluconeogénesis como resultado de aumento del catabolismo hepático de aminoácidos, debido a la inducción de aminotransferasas (y otras enzimas como la triptófano dioxigenasa) y enzimas clave de la gluconeogénesis. Además, los glucocorticoides inhiben la utilización de glucosa en tejidos extrahepáticos. En todas estas acciones, los glucocorticoides actúan de un modo antagonista a la insulina. Varias **citocinas** secretadas por macrófagos que in l-tran el tejido adiposo también tienen acciones antagonistas de la insulina; junto con los glucocorticoides secretados por el tejido adiposo, esto explica la resistencia a la insulina que suele observarse en individuos obesos.

La **epinefrina** es secretada por la médula suprarrenal como resultado de estímulos estresantes (miedo, emoción, hemorragia, hipoxia, hipoglucemia, etc.) y lleva a glucogenólisis en el hígado y el músculo debido a estimulación de la fosforilasa por medio de generación de cAMP. En el músculo, la glucogenólisis produce incremento de la glucólisis, mientras que en el hígado ocasiona la liberación de glucosa hacia el torrente sanguíneo.

CUADRO 20-3 Respuestas del tejido a la insulina y el glucagon

	Hígado	Tejido adiposo	Músculo
Aumentado por insulina	Síntesis de ácidos grasos Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína	Captación de glucosa Síntesis de ácidos grasos	Captación de glucosa Síntesis de glucógeno Síntesis de proteína
Disminuido por insulina	Cetogénesis Gluconeogénesis	Lipólisis	
Aumentado por glucagon	Glucogenólisis Gluconeogénesis Cetogénesis	Lipólisis	

ASPECTOS CLÍNICOS ADICIONALES

Cuando se supera el umbral renal para la glucosa se produce glucosuria

Cuando la glucosa en sangre aumenta hasta cifras relativamente altas, los riñones también ejercen un efecto regulador. Los glomérulos ltran de manera continua la glucosa, pero en circunstancias normales se reabsorbe por completo en los túbulos renales mediante transporte activo. La capacidad del sistema tubular para reabsorber glucosa está limitada a un índice de alrededor de 2 mmol/min, y en la hiperglucemia (como ocurre en la diabetes sacarina [mellitus] mal controlada), el ltrado glomerular puede contener más glucosa que la que es posible reabsorber, lo que da por resultado glucosuria. Esta última sobreviene cuando la concentración de glucosa en sangre venosa excede alrededor de 10 mmol/L; esto se llama el **umbral renal** para la glucosa.

La hipoglucemia puede aparecer durante el embarazo y en el recién nacido

Durante la gestación, el consumo de glucosa por el feto aumenta, y hay riesgo de hipoglucemia materna y quizá fetal, en particular si hay intervalos prolongados entre las comidas o por la noche. Además, los lactantes prematuros y con peso bajo al nacer son más susceptibles a la hipoglucemia, porque tienen poco tejido adiposo para que proporcione ácidos grasos libres. Las enzimas de la gluconeogénesis pueden no ser por completo funcionales en este momento, y la gluconeogénesis de cualquier modo depende de un aporte de ácidos grasos libres para obtener energía. Hay poco glicerol, que por lo normal se liberaría a partir del tejido adiposo, disponible para gluconeogénesis.

Al medir la tolerancia a la glucosa es posible determinar la capacidad del cuerpo para utilizarla

La tolerancia a la glucosa es la capacidad para regular su concentración en sangre después de la administración de una dosis de prueba de glucosa (por lo general 1 g/kg de peso corporal) (g. 20-6). La **diabetes sacarina** (diabetes mellitus tipo 1 o insulinodependiente; DMID) se caracteriza por disminución de la tolerancia a la glucosa a consecuencia de decremento de la secreción de insulina por destrucción progresiva de células β de los islotes pancreáticos. Asimismo, la tolerancia a la glucosa se ve afectada en la diabetes mellitus tipo 2 (NIDDM) como resultado de sensibilidad alterada de los tejidos a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina relacionada con obesidad (y en particular con la obesidad abdominal) que conduce a la aparición de hiperlipidemia, y luego a aterosclerosis y cardiopatía coronaria, así como a diabetes mani esta, se conoce como el **síndrome metabólico**. La tolerancia a la glucosa también está alterada en situaciones en las cuales hay daño del hígado, en algunas infecciones, y en respuesta a algunos fármacos, así como en circunstancias que llevan a hiperactividad de la hipó sis o de la corteza suprarrenal debido a antagonismo de las hormonas secretadas por estas glándulas a la acción de la insulina.

La administración de insulina (como en el tratamiento de la diabetes mellitus) aminora la concentración sanguínea de glucosa, y aumenta su utilización y almacenamiento como glucógeno en el hígado y el músculo. Un exceso de insulina puede causar **hipoglucemia**, lo que origina convulsiones e incluso la muerte a menos que se administre glucosa con prontitud. En la insuficiencia hipofisaria o adrenocortical se observa incremento de la tolerancia a la glucosa, atribuible a una disminución del antagonismo para la insulina por las hormonas normalmente secretadas por estas glándulas.

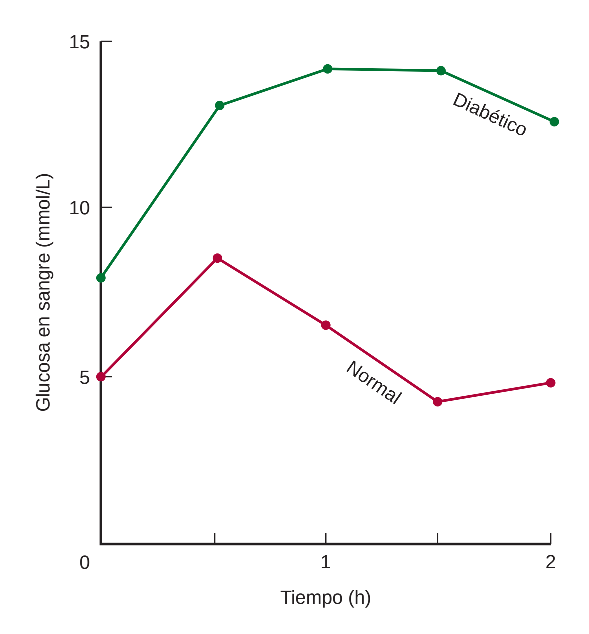


FIGURA 20-6 Prueba de tolerancia a la glucosa. Curvas de glucosa en sangre de una persona normal y de una diabética después de la administración por vía oral de 1 g de glucosa/kilogramo de peso corporal. Note la concentración aumentada inicial en el diabético en ayuno. Un criterio de normalidad es el regreso de la curva al valor inicial en el transcurso de 2 h.

El costo energético de la gluconeogénesis explica por qué las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos promueven la pérdida de peso

Las dietas con muy bajo contenido de carbohidratos, que sólo proporcionan 20 g o menos de carbohidratos por día (en comparación con una ingestión deseable de 100 a 120 g/día), pero que permiten el consumo ilimitado de grasa y proteína, se han promovido como un régimen e caz para la pérdida de peso, aun cuando esas dietas son contrarias a todas las recomendaciones respecto a una dieta prudente para que haya salud. Puesto que hay una demanda continua de glucosa, habrá una cantidad considerable de gluconeogénesis a partir de aminoácidos; el alto costo de ATP vinculado debe satisfacerse entonces por medio de la oxidación de ácidos grasos.

RESUMEN

- La gluconeogénesis es el proceso de síntesis de glucosa o glucógeno a partir de precursores que no son carbohidratos. Tiene especial importancia cuando el carbohidrato no está disponible a partir de la dieta. Los sustratos importantes son aminoácidos, lactato, glicerol y propionato.
- La vía de la gluconeogénesis en hígado y riñones utiliza las reacciones en la glucólisis que son reversibles, más cuatro reacciones adicionales que evitan el paso por las reacciones no de equilibrio irreversibles.
- Dado que la glucólisis y la gluconeogénesis comparten la misma vía pero operan en direcciones opuestas, es necesario que sus actividades se regulen de manera recíproca.
- El hígado regula la glucosa en la sangre después de una comida, porque contiene la glucocinasa que presenta una K_m alta que promueve el aumento de la utilización hepática de glucosa.
- La insulina se secreta como una respuesta directa a la hiperglucemia; estimula al hígado para que almacene glucosa como glucógeno, y facilita la captación de glucosa hacia tejidos extrahepáticos.
- El glucagon se secreta como una respuesta a la hipoglucemia y activa tanto la glucogenólisis como la gluconeogénesis en el hígado, lo que causa liberación de glucosa hacia la sangre.

REFERENCIAS

Barthel A, Schmoll D: Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003;285:E685.

Boden G: Gluconeogenesis and glycogenolysis in health and diabetes. J Investig Med 2004;52:375.

Dzugaj, A: Localization and regulation of muscle fructose 1,6-bisphosphatase, the key enzyme of glyconeogenesis. Adv Enzyme Regul 2006;46:51.

Jiang G, Zhang BB: Glucagon and regulation of glucose metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003; 284:E671.

Jitrapakdee S, Vidal-Puig A, et al: Anaplerotic roles of pyruvate carboxylase in mammalian tissues. Cell Mol Life Sci 2006; 63:843.

Klover PJ, Mooney RA: Hepatocytes: critical for glucose homeostasis. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:753.

McGuinness OP: Defective glucose homeostasis during infection. Ann Rev Nutr 2005;25:9.

Mlinar B, Marc J, et al: Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. Clin Chim Acta 2007;375:20.

Nordlie RC, Foster JD, Lange AJ: Regulation of glucose production by the liver. Ann Rev Nutr 1999;19:379.

Pilkis SJ, Claus TH: Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. Ann Rev Nutr 1991;11:465.

Pilkis SJ, Granner DK: Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. Ann Rev Physiol 1992;54:885.

Postic C, Shiota M, Magnuson MA: Cell-specific roles of glucokinase in glucose homeostasis. Rec Prog Horm Res 2001;56:195.

Quinn PG, Yeagley D: Insulin regulation of PEPCK gene expression: a model for rapid and reversible modulation. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord 2005;5:423.

Reaven GM: The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. Ann Rev Nutr 2005;25:391.

Roden M, Bernroider E: Hepatic glucose metabolism in humans—its role in health and disease. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003;17:365.

Schuit FC, Huypens P, Heimberg H, Pipeleers DG: Glucose sensing in pancreatic beta-cells: a model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothal amus. Diabetes 2001;50:1.

Suh SH, Paik IY, et al: Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. Mol Cells 2007;23:272.

Wahren J, Ekberg K: Splanchnic regulation of glucose production. Ann Rev Nutr 2007;27:329.

Young, A: Inhibition of glucagon secretion. Adv Pharmacol 2005;52:151.

CAPÍTULO 21

La vía de la pentosa fosfato y otras vías del metabolismo de hexosas

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La vía de la pentosa fosfato es una ruta alternativa para el metabolismo de la glucosa. No induce la formación de ATP, pero tiene dos funciones importantes: 1) la formación de **NADPH** para la síntesis de ácidos grasos y esteroides, y 2) la síntesis de **ribosa** para la formación de nucleótido y ácido nucleico. La glucosa, fructosa y galactosa son las principales hexosas que se absorben a partir del tubo digestivo, derivadas del almidón, la sacarosa y la lactosa, de la dieta, respectivamente.

La fructosa y la galactosa pueden convertirse en glucosa, principalmente a nivel hepático.

La deficiencia genética de **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa,** la primera enzima de la vía de la pentosa fosfato, es una causa importante de lisis de eritrocitos, lo que origina **anemia hemolítica.** El ácido glucurónico se sintetiza a partir de la glucosa mediante la **vía del ácido urónico,** de importancia cuantitativa menor, pero muy importante para la excreción de metabolitos y sustancias químicas extrañas (xenobióticos) como **glucurónidos.** Una deficiencia en la vía lleva a la enfermedad de **pentosuria esencial.** La falta de una enzima de la vía (gulonolactona oxidasa) en primates y en algunos otros animales explica por qué el **ácido ascórbico** (vitamina C) es un requerimiento de la dieta para seres humanos, mas no para casi todos los otros mamíferos.

Las deficiencias de las enzimas del metabolismo de la fructosa y galactosa pueden ser la causa de enfermedades metabólicas como **fructosuria esencial, intolerancia hereditaria a la fructosa** y **galactosemia.**

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO FORMA NADPH Y RIBOSA FOSFATO

La vía de la pentosa fosfato (derivación de hexosa monofosfato) es una vía más compleja que la glucólisis (fig. 21-1). Tres moléculas de glucosa 6-fosfato dan lugar a tres moléculas de CO_2 y a tres azúcares de cinco carbonos, los cuales se reordenan para generar a su vez dos moléculas de glucosa 6-fosfato y una molécula del intermediario glucolítico, gliceraldehído 3-fosfato. Puesto que dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato pueden regenerar glucosa 6-fosfato, la vía puede explicar la oxidación completa de la glucosa.

LAS REACCIONES DE LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO SUCEDEN EN EL CITOSOL

Al igual que la glucólisis, las enzimas de la vía de la pentosa fosfato son citosólicas. Al contrario de la glucólisis, la oxidación se logra por medio de deshidrogenación usando **$NADP^+$**, no **NAD^+**, como el aceptor de hidrógeno. La secuencia de reacciones de la vía puede dividirse en dos fases: una **fase irreversible oxidativa** y una **fase reversible no oxidativa.** En la primera fase, la glucosa 6-fosfato pasa por deshidrogenación y descarboxilación para dar una pentosa, la ribulosa 5-fosfato. En la segunda fase, la ribulosa 5-fosfato se convierte de regreso en glucosa 6-fosfato mediante una serie de reacciones que comprenden principalmente dos enzimas: **transcetolasa** y **transaldolasa** (fig. 21-1).

La fase oxidativa genera NADPH

La deshidrogenación de la glucosa 6-fosfato hacia 6-fosfogluconato ocurre por medio de la formación de 6-fosfogluconolactona catalizada por la **glucosa 6-fosfato deshidrogenasa,** una enzima dependiente de NADP (figs. 21-1 y 21-2). La hidrólisis de la 6-fosfogluconolactona se logra mediante la enzima **gluconolactona hidrolasa.** Un segundo paso oxidativo es catalizado por la **6-fosfogluconato deshidrogenasa,** que también necesita $NADP^+$ como aceptor de hidrógeno. A continuación hay descarboxilación, con la formación de la cetopentosa ribulosa 5-fosfato.

La fase no oxidativa genera precursores de la ribosa

La ribulosa 5-fosfato es el sustrato para dos enzimas. La **ribulosa 5-fosfato 3-epimerasa** altera la configuración alrededor del carbono 3, lo que forma el epímero xilulosa 5-fosfato, también una cetopentosa. La **ribosa 5-fosfato cetoisomerasa** convierte a la ribulosa 5-fosfato en la aldopentosa correspondiente, ribosa 5-fosfato, que se usa para la síntesis de nucleótido y ácido nucleico. La **transcetolasa** transfiere la unidad de dos carbonos que incluye los carbonos 1 y 2 de una cetosa hacia el carbono aldehído de un azúcar aldosa. Por consiguiente, afecta la conversión de un azúcar cetosa en una aldosa con dos carbonos menos y un azúcar aldosa en una cetosa con dos carbonos más. La reacción requiere Mg^{2+} y

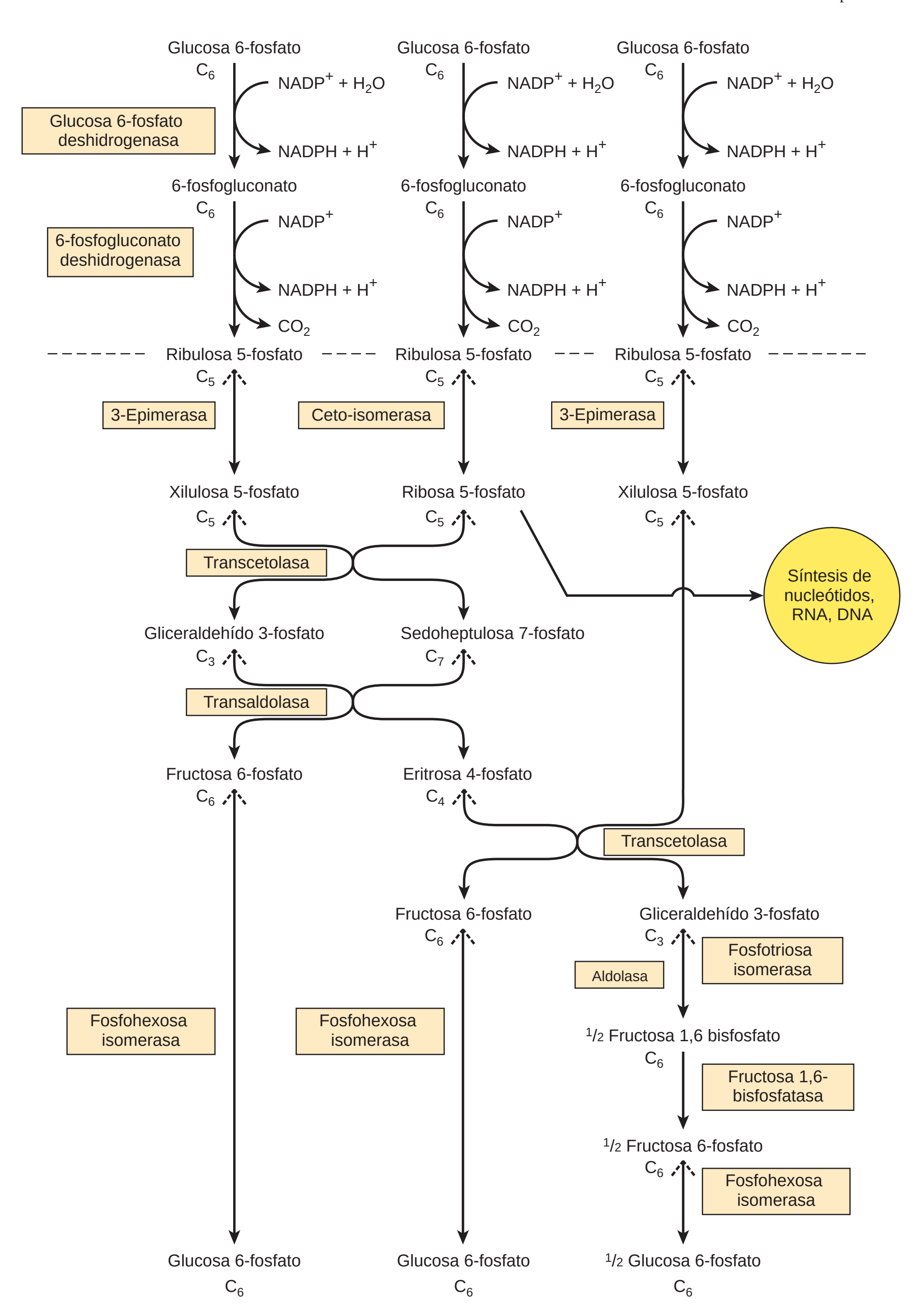


FIGURA 21-1 Diagrama de flujo de la vía de la pentosa fosfato y sus conexiones con la vía de la glucólisis. La vía completa, según se indica, consta de tres ciclos interconectados en los cuales la glucosa 6-fosfato es tanto sustrato como producto terminal. Las reacciones que están por arriba de la línea discontinua son irreversibles, mientras que todas las que están bajo esa línea son libremente reversibles excepto la catalizada por la fructosa 1,6-bisfosfatasa.

difosfato de tiamina (vitamina B_1) como coenzima. Es probable que la porción de dos carbonos transferida sea glucolaldehído unido a difosfato de tiamina. De este modo, la transcetolasa cataliza la transferencia de la unidad de dos carbonos desde la xilulosa 5-fosfato hacia la ribosa 5-fosfato, lo que produce la cetosa de siete carbonos sedoheptulosa 7-fosfato, y la aldosa gliceraldehído 3-fosfato. Estos dos productos luego pasan por transaldolación. La **transaldolasa** cataliza la transferencia de una porción dihidroxiacetona de tres carbonos (carbonos uno a tres) desde la cetosa sedoheptulosa 7-fosfato hacia la aldosa gliceraldehído 3-fosfato para formar una cetosa fructosa 6-fosfato y la aldosa de cuatro carbonos eritrosa 4-fosfato. En una reacción adicional catalizada por **transcetolasa,** la xilulosa 5-fosfato sirve como un donador de glucolaldehído. En este caso la eritrosa 4-fosfato es el aceptor, y los productos de la reacción son fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato.

A fin de oxidar la glucosa por completo a CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato, debe haber enzimas presentes en el tejido

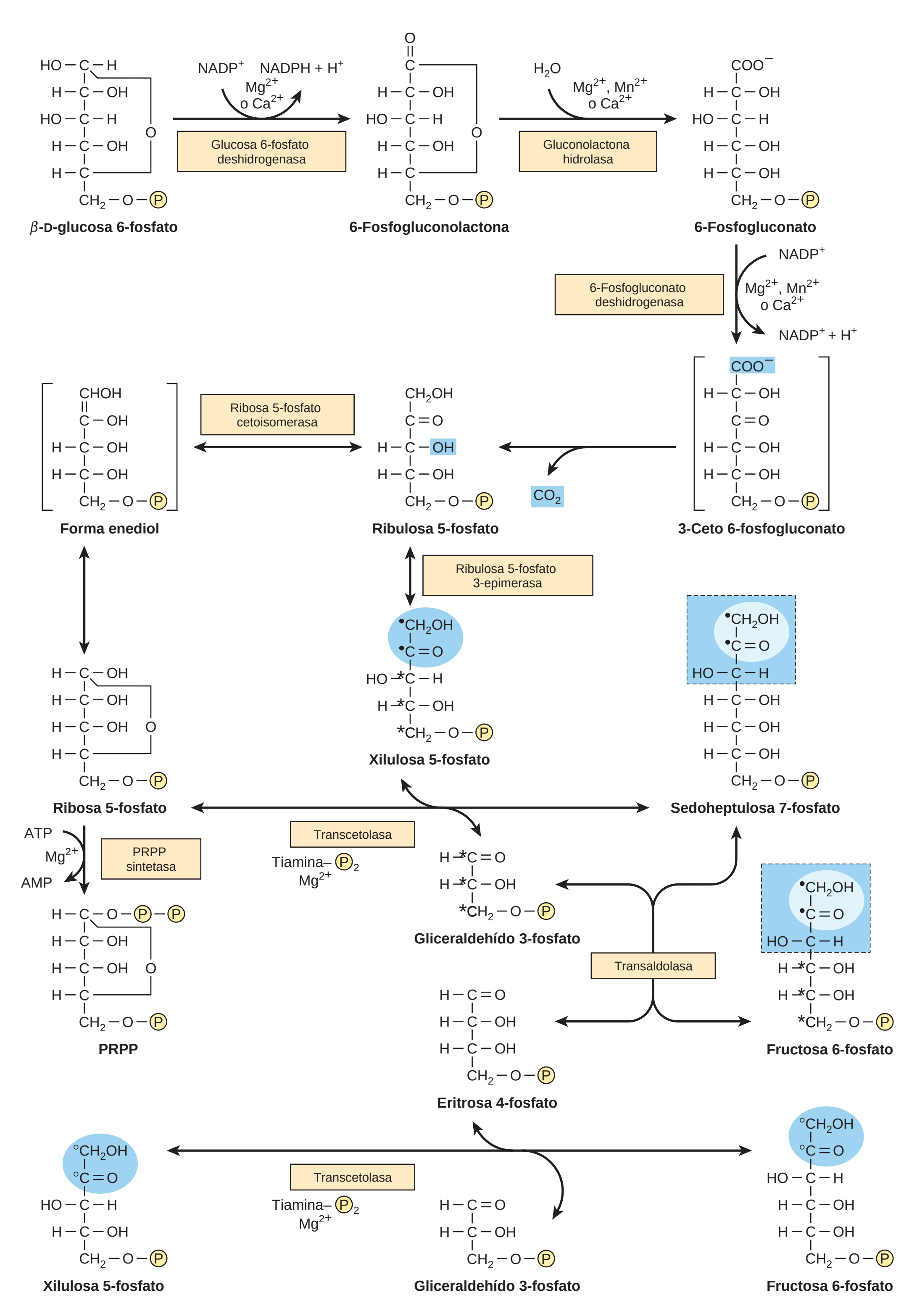


FIGURA 21-2 La vía de la pentosa fosfato. (P, — PO_3^{2-}; PRPP, 5-fosforribosil 1-pirofosfato.)

para convertir el gliceraldehído 3-fosfato en glucosa 6-fosfato. Esto comprende reversión de la glucólisis y la enzima gluconeogénica **fructosa 1,6-bisfosfatasa**. En los tejidos que carecen de esta enzima, la gliceraldehído 3-fosfato continúa la vía normal de la glucólisis hacia piruvato.

Las dos principales vías para el catabolismo de la glucosa tienen poco en común

Si bien la glucosa 6-fosfato es común a ambas vías, la vía de la pentosa fosfato difiere de manera notoria de la glucólisis. En la oxida-

ción se utiliza NADP en lugar de NAD, y el CO_2, que no es generado durante la glucólisis, es un producto característico. En la vía de la pentosa fosfato no se genera ATP, mientras que es un producto importante de la glucólisis.

Los equivalentes reductores se generan en los tejidos especializados en síntesis reductivas

La vía de la pentosa fosfato es activa en el hígado, el tejido adiposo, la corteza suprarrenal, tiroides, eritrocitos, testículos y glándula mamaria en lactancia. Su actividad es baja en la glándula mamaria no en lactancia y en el músculo estriado. Los tejidos en los cuales la vía es activa usan NADPH en síntesis reductivas, por ejemplo, de ácidos grasos, esteroides, aminoácidos mediante la glutamato deshidrogenasa y glutatión reducido. En el estado posprandial, cuando se incrementa la lipogénesis, la insulina también puede inducir la síntesis de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa.

La ribosa puede sintetizarse en casi todos los tejidos

En el torrente sanguíneo circula poca o ninguna ribosa, de modo que los tejidos deben sintetizar la que necesitan para síntesis de nucleótido y ácido nucleico, usando la vía de la pentosa fosfato (fig. 21-2). No es necesario tener una vía de la pentosa fosfato que funcione por completo para que un tejido sintetice ribosa 5-fosfato. El músculo sólo tiene actividad baja de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y 6-fosfogluconato deshidrogenasa pero, al igual que casi todos los otros tejidos, tiene la capacidad para sintetizar ribosa 5-fosfato por medio de reversión de la fase no oxidativa de la vía de la pentosa fosfato utilizando fructosa 6-fosfato.

LA VÍA DE LA PENTOSA FOSFATO Y LA GLUTATIÓN PEROXIDASA PROTEGEN A LOS ERITROCITOS CONTRA HEMÓLISIS

En los eritrocitos la vía de la pentosa fosfato proporciona NADPH para la reducción de glutatión oxidado, catalizada por la **glutatión reductasa,** una flavoproteína que contiene FAD. El glutatión reducido elimina H_2O_2 en una reacción catalizada por la **glutatión peroxidasa,** una enzima que contiene el análogo **selenio** de cisteína (selenocisteína) en el sitio activo (fig. 21-3). La reacción es importante, porque la acumulación de H_2O_2 puede acortar el lapso de vida del eritrocito al causar daño oxidativo de la membrana celular, lo que conduce a hemólisis.

EL GLUCURONATO, UN PRECURSOR DE PROTEOGLUCANOS Y DE GLUCURÓNIDOS CONJUGADOS, ES UN PRODUCTO DE LA VÍA DEL ÁCIDO URÓNICO

En el hígado, la **vía del ácido urónico** cataliza la conversión de glucosa en ácido glucurónico, ácido ascórbico (salvo en seres humanos y otras especies para las cuales el ascorbato es una vitamina), y pentosas (fig. 21-4). Asimismo, es una vía oxidativa alternativa para la glucosa que, al igual que la vía de la pentosa fosfato, no lleva a la formación de ATP.

La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato, que entonces reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar uridina difosfato glucosa (UDPGlc) en una reacción catalizada por la **UDPGlc pirofosforilasa,** como sucede en la síntesis de glucógeno (cap. 19). La UDPGlc se oxida en el carbono 6 por la **UDPGlc deshidrogenasa** dependiente de NAD, en una reacción de dos pasos para generar UDP-glucuronato.

El UDP glucuronato es la fuente de glucuronato para reacciones que incluyen su incorporación hacia proteoglucanos o para reacción con sustratos como hormonas esteroideas, bilirrubina y diversos medicamentos que se excretan en la orina o la bilis como conjugados glucurónido (fig. 31-13).

El glucuronato se reduce hacia l-gulonato, el precursor directo del **ascorbato** en los animales que tienen la capacidad para sintetizar esta vitamina, en una reacción dependiente de NADPH. Los seres humanos y otros primates, así como los conejillos de Indias (cobayos), murciélagos y algunas aves y peces, no pueden sintetizar ácido ascórbico debido a la falta de **l-gulonolactona oxidasa.** El l-gulonato se oxida hacia 3-ceto-l-gulonato, que después es descarboxilado hacia l-xilulosa; esta última se convierte en el isómero d por medio de una reducción dependiente del NADPH hacia xilitol, seguida por oxidación en una reacción dependiente de NAD hacia d-xilulosa. Luego de conversión en d-xilulosa 5-fosfato, se metaboliza por medio de la vía de la pentosa fosfato.

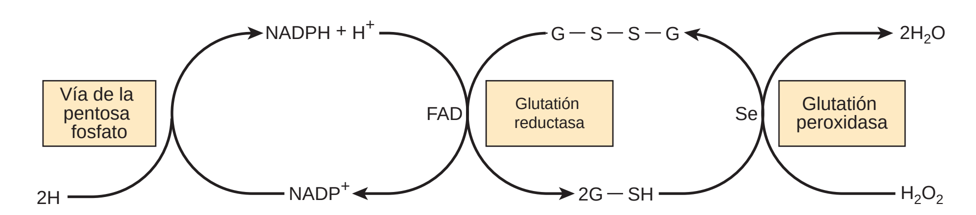


FIGURA 21-3 Función de la vía de la pentosa fosfato en la reacción de glutatión peroxidasa de eritrocitos. (G-S-S-G, glutatión oxidado; G-SH, glutatión reducido; Se, enzima que contiene selenio.)

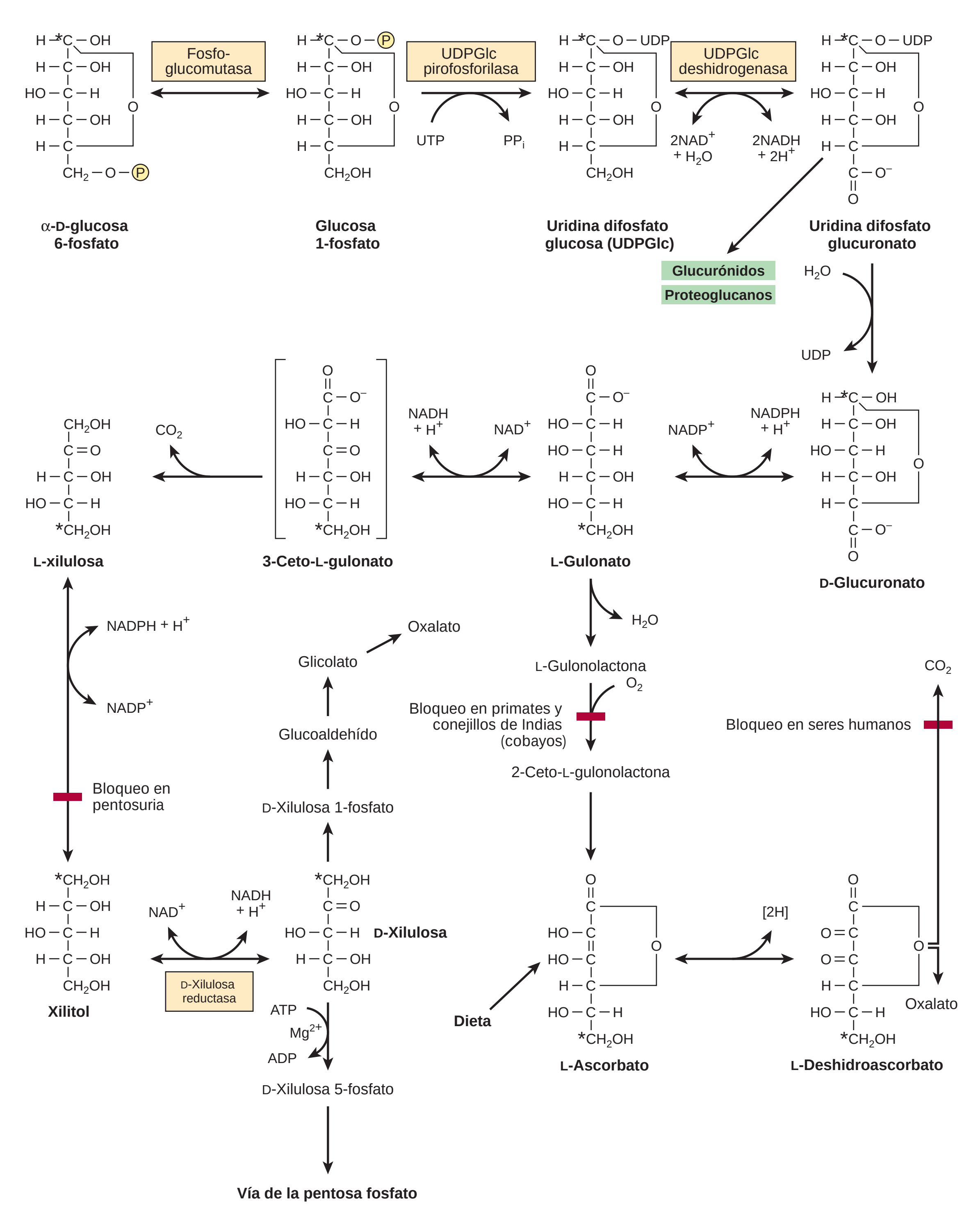


FIGURA 21-4 Vía del ácido urónico. (*Indica el destino del carbono 1 de la glucosa; Ⓟ, —PO_3^{2-}.)

LA INGESTIÓN DE GRANDES CANTIDADES DE FRUCTOSA TIENE PROFUNDAS CONSECUENCIAS METABÓLICAS

Las dietas con alto contenido de sacarosa o con jarabes con alto contenido de fructosa usados en alimentos y bebidas manufacturados provocan la entrada de grandes cantidades de fructosa (y glucosa) a la vena porta hepática.

La fructosa pasa por glucólisis más rápida en el hígado que la glucosa, porque sortea el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (fig. 21-5); lo cual permite que la fructosa sature las vías en el hígado, lo que lleva a aumento de la síntesis y la esterificación de ácidos grasos, y de la secreción de VLDL, lo que puede incrementar

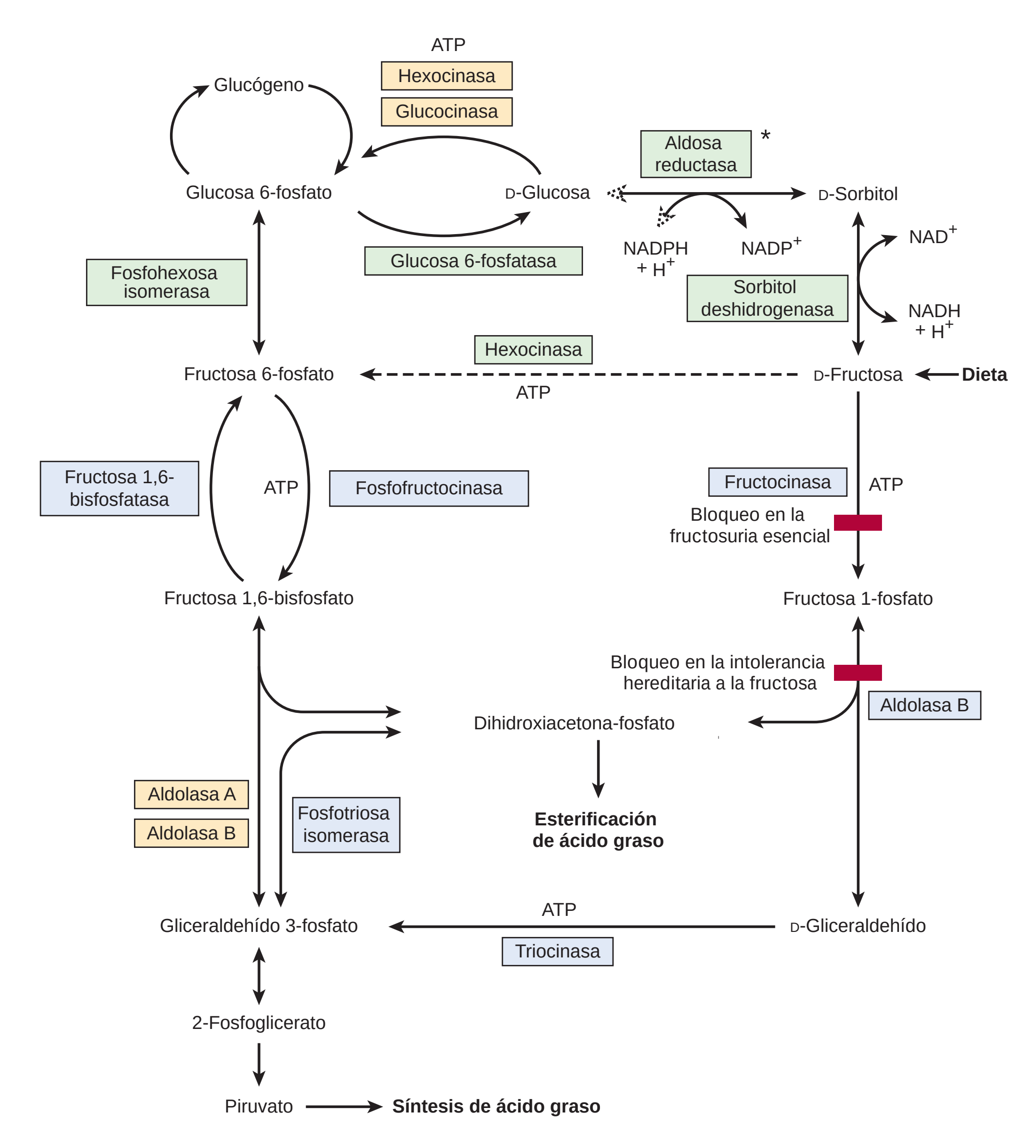


FIGURA 21-5 Metabolismo de la fructosa. La aldolasa A se encuentra en todos los tejidos, mientras que la aldolasa B es la forma predominante en el hígado. (*No se encuentra en el hígado.)

las cifras séricas de triacilgliceroles y por último de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Una cinasa específica, la **fructocinasa,** cataliza la fosforilación de fructosa hacia fructosa 1-fosfato en hígado, riñones e intestino. Esta enzima no actúa sobre la glucosa y, al contrario de la glucocinasa, su actividad no es afectada por el ayuno ni por la insulina, lo cual puede explicar por qué en diabéticos la fructosa se elimina de la sangre a un índice normal. La fructosa 1-fosfato se divide hacia d-gliceraldehído y dihidroxiacetona fosfato mediante la **aldolasa B,** una enzima en el hígado, que también funciona en la glucólisis hepática al dividir a la fructosa 1,6-bisfosfato. El d-gliceraldehído entra a la glucólisis por medio de fosforilación hacia gliceraldehído 3-fosfato catalizada por la **triocinasa.** Los dos triosa fosfatos, dihidroxiacetona fosfato y gliceraldehído 3-fosfato, pueden degradarse mediante glucólisis o ser sustratos para la aldolasa y, por tanto, para la gluconeogénesis, que es el destino de gran parte de la fructosa que se metaboliza en el hígado.

En tejidos extrahepáticos, la hexocinasa cataliza la fosforilación de casi todas las hexosas, incluso la fructosa, pero la glucosa inhibe la fosforilación de la fructosa, porque es un mejor sustrato para la hexocinasa. Aun así, algo de fructosa puede metabolizarse en el tejido adiposo y el músculo. La fructosa se encuentra en el plasma seminal y en la circulación del feto de ungulados y ballenas. La aldosa reductasa se encuentra en la placenta de ovejas y se encarga de la secreción de sorbitol hacia la sangre fetal. La conversión de sorbitol en fructosa depende de la presencia de la enzima sorbitol deshidrogenasa en el hígado, incluso el hígado del feto. Esta vía también es la causa de la presencia de fructosa en el líquido seminal.

LA GALACTOSA SE REQUIERE PARA LA SÍNTESIS DE LACTOSA, GLUCOLÍPIDOS, PROTEOGLUCANOS Y GLUCOPROTEÍNAS

La galactosa se deriva de la hidrólisis intestinal del disacárido **lactosa,** el azúcar de la leche, y en el hígado se convierte con facilidad en

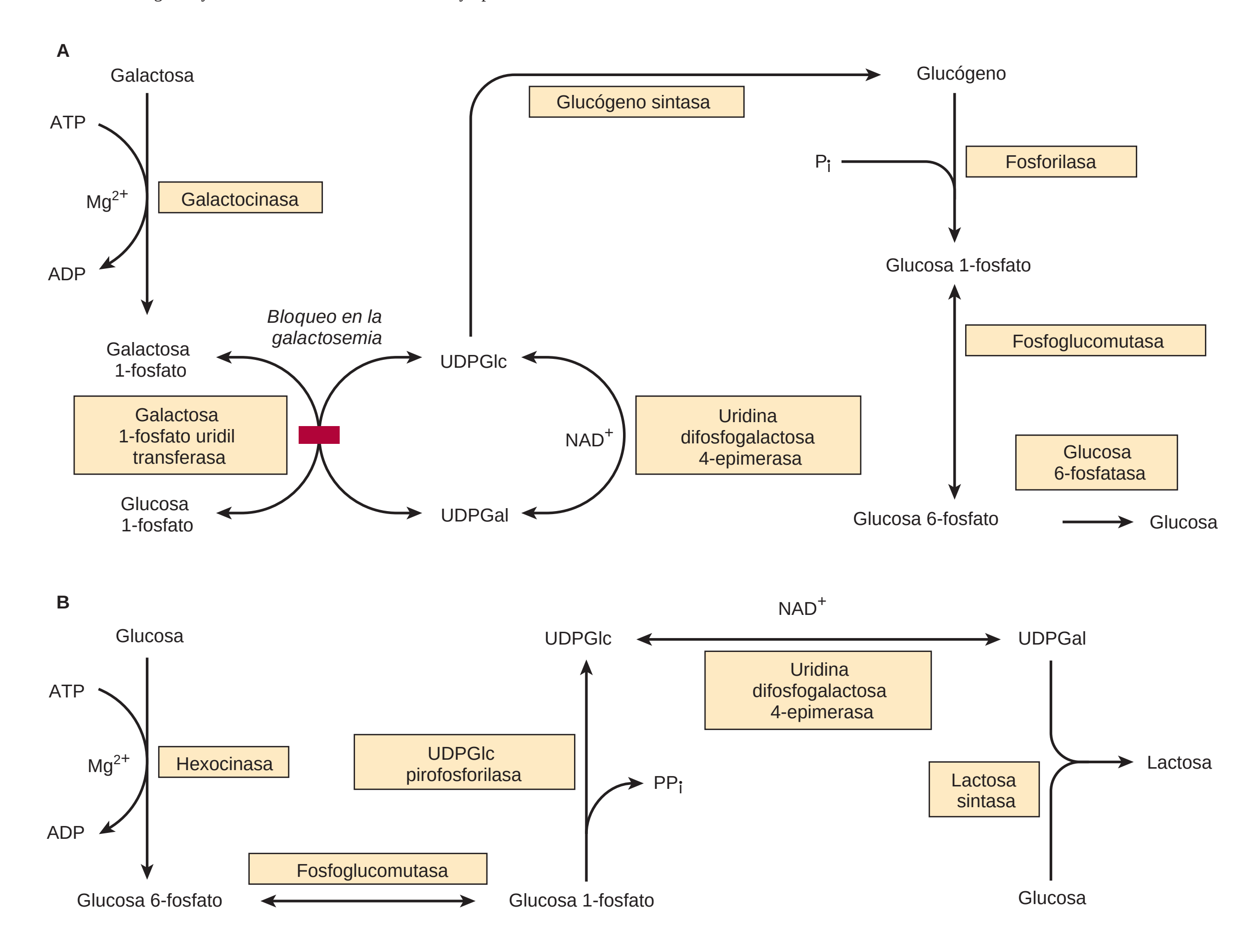


FIGURA 21-6 Vía de la conversión de **(A)** galactosa en glucosa en el hígado y **(B)** glucosa en lactosa en la glándula mamaria en lactancia.

glucosa. La **galactocinasa** cataliza la fosforilación de galactosa, usando ATP como donador de fosfato (fig. 21-6). La galactosa 1-fosfato reacciona con la uridina difosfato glucosa (UDPGlc) para formar uridina difosfato galactosa (UDPGal) y glucosa 1-fosfato, en una reacción catalizada por la **galactosa 1-fosfato uridil transferasa.** La conversión de UDPGal en UDPGlc es catalizada por la **UDPGal 4-epimerasa**. La reacción comprende oxidación, después reducción, en el carbono 4, con NAD^+ como coenzima. La UDPGlc luego se incorpora hacia el glucógeno (cap. 19).

Dado que la reacción de epimerasa es libremente reversible, la glucosa se puede convertir en galactosa, de manera que esta última no es un constituyente esencial de la dieta. La galactosa es necesaria en el cuerpo no sólo para la formación de lactosa, sino también como un constituyente de glucolípidos (cerebrósidos), proteoglucanos y glucoproteínas. En la síntesis de lactosa en la glándula mamaria, la UDPGal se condensa con glucosa para dar lactosa, catalizada por la **lactosa sintasa** (fig. 21-6).

La glucosa es el precursor de azúcares amino (hexosaminas)

Los azúcares amino son componentes de importancia de las **glucoproteínas** (cap. 47), y de ciertos **glucoesfingolípidos** (p. ej., gangliósidos; cap. 15), y de **glucosaminoglucanos** (cap. 48). Los principales azúcares amino son las hexosaminas **glucosamina, galactosamina** y **manosamina,** y el compuesto de nueve carbonos **ácido siálico.** El principal ácido siálico que se encuentra en tejidos humanos es el ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc o NANA). En la figura 21-7 se resumen las interrelaciones metabólicas entre los azúcares amino.

ASPECTOS CLÍNICOS

El deterioro de la vía de la pentosa fosfato conduce a hemólisis

Los defectos genéticos de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, con deterioro consiguiente de la generación de NADPH, son frecuentes en poblaciones de origen mediterráneo y afrocaribeño. El gen está en el cromosoma X, de modo que los afectados son principalmente varones. Alrededor de 400 millones de personas portan un gen mutado para la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, lo que hace que sea el defecto genético más frecuente, pero la mayoría es asintomática. La distribución de genes mutantes se asemeja a la del paludismo, lo que sugiere que ser heterocigoto confiere resistencia contra el paludismo. El defecto se manifiesta como lisis de eritrocitos (**anemia hemolítica**) cuando los pacientes susceptibles quedan sujetos a estrés oxidativo (cap. 52) por infección, fármacos como el antipalúdico primaquina, y sulfonamidas, o cuando han comido habas (*Vicia

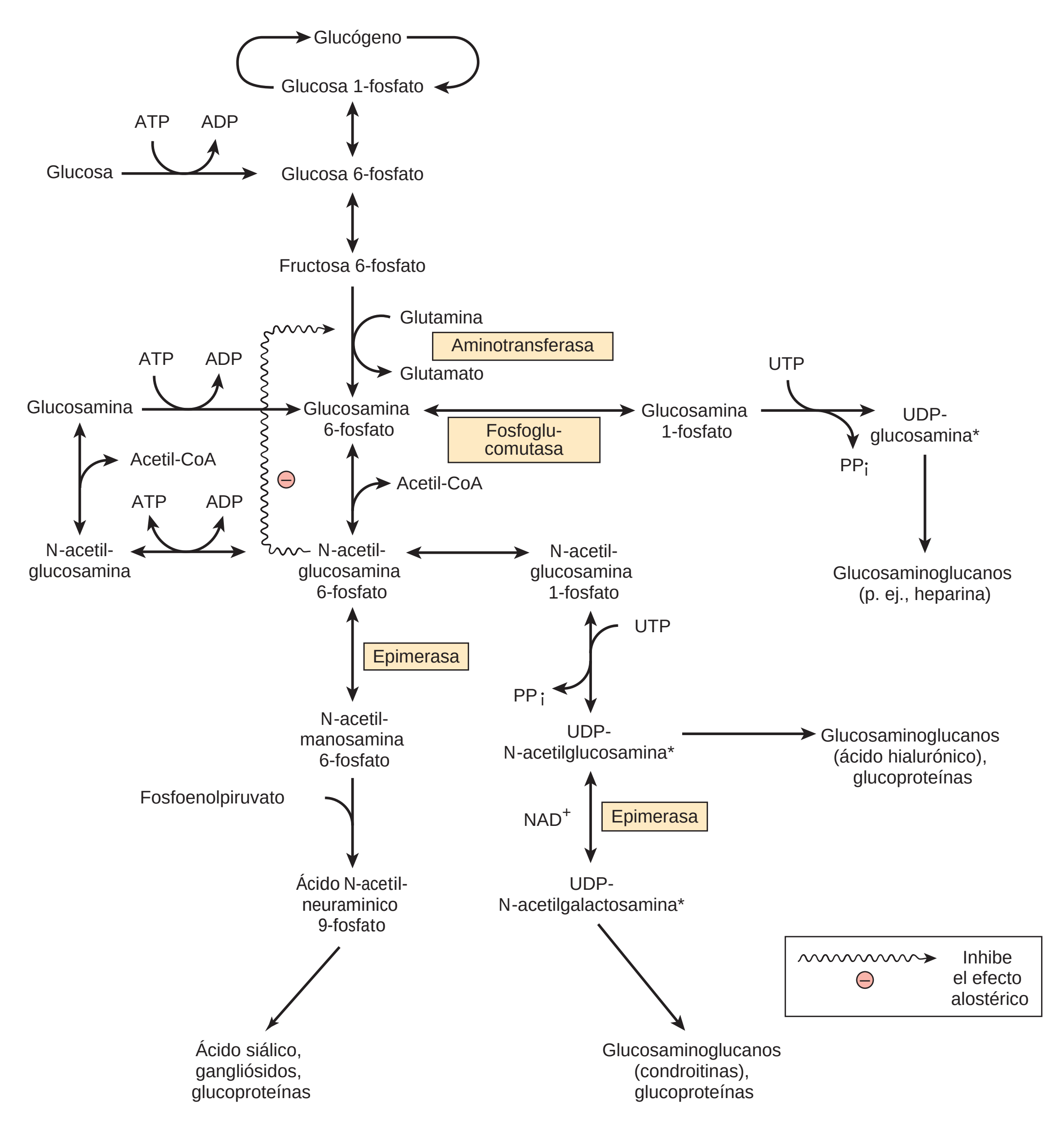


FIGURA 21-7 Resumen de las interrelaciones en el metabolismo de azúcares amino. (*Análogo a UDPGlc.) Otros nucleótidos purina o pirimidina pueden estar enlazados de modo similar a azúcares o azúcares amino. Los ejemplos son difosfato de timidina-glucosamina, y difosfato de timidina-*N*-acetilglucosamina.

fava, de ahí el nombre de la enfermedad, **favismo**). Hay dos variantes principales del favismo, en la afrocaribeña la enzima es inestable, de manera que aun cuando las actividades promedio de los eritrocitos son bajas, el estrés oxidativo sólo afecta a los eritrocitos más viejos y las crisis hemolíticas tienden a ser autolimitadas; en contraste, en la variante del Mediterráneo la enzima es estable, pero tiene actividad baja en todos los eritrocitos. Las crisis hemolíticas en estas personas son más graves y pueden ser mortales. La glutatión peroxidasa depende de un aporte suficiente de NADPH, que en los eritrocitos sólo puede formarse por medio de la vía de la pentosa fosfato. Reduce peróxidos orgánicos y H_2O_2, como parte de la defensa del cuerpo contra peroxidación lípida (fig. 15-21). La medición de la **transcetolasa** de eritrocitos y su activación mediante difosfato de tiamina, se usan para evaluar el estado nutricional en cuanto a tiamina (cap. 44).

La alteración de la vía del ácido urónico se produce por defectos enzimáticos y por algunos medicamentos

En la rara enfermedad hereditaria benigna **pentosuria esencial**, aparecen cantidades considerables de **l-xilulosa** en la orina, debido a falta de la enzima necesaria para reducir l-xilulosa hacia xilitol. Diversos fármacos aumentan el índice al cual la glucosa entra a la vía del ácido urónico. Por ejemplo, la administración de barbital o clorobutanol a ratas suscita un incremento importante de la conversión de glucosa en glucuronato, l-gulonato y ascorbato. La aminopirina y la antipirina aumentan la excreción de l-xilulosa en individuos pentosúricos. La pentosuria también tiene lugar después del consumo de grandes cantidades de frutas (como peras) que son ricas fuentes de pentosas **(pentosuria alimentaria)**.

Cargar el hígado con fructosa puede potenciar la hipertriacilglicerolemia, hipercolesterolemia e hiperuricemia

En el hígado, la fructosa incrementa la síntesis de ácidos grasos y triacilglicerol, y la secreción de VLDL, lo que da pie a hipertriacilglicerolemia —e incremento del colesterol LDL—, que en potencia es aterogénico (cap. 26). Esto se debe a que la fructosa entra a la glucólisis por medio de la fructocinasa y la fructosa 1-fosfato resultante evita el paso regulador catalizado por la fosfofructocinasa (cap. 18). Más aún, la carga aguda del hígado con fructosa, como llega a suceder con la administración por vía intravenosa lenta o luego de ingestiones muy altas de fructosa, causa secuestro de fosfato inorgánico en la fructosa 1-fosfato, y síntesis disminuida de ATP. Como resultado hay menos inhibición de la síntesis de purina *de novo* por ATP, y hay incremento de la formación de ácido úrico, lo que produce hiperuricemia, que es una causa de gota (cap. 33).

Los defectos del metabolismo de la fructosa suscitan enfermedad

Una falta de fructocinasa hepática genera **fructosuria esencial,** una enfermedad benigna y asintomática. La falta de aldolasa B, que divide a la fructosa 1-fosfato, lleva a **intolerancia hereditaria a la fructosa,** caracterizada por hipoglucemia profunda y vómito después del consumo de fructosa (o de sacarosa, que da fructosa en el momento de la digestión) (fig. 21-5). Las dietas con bajo contenido de fructosa, sorbitol y sacarosa son beneficiosas para ambas enfermedades. Una consecuencia de la intolerancia hereditaria a la fructosa, y de una enfermedad vinculada como resultado de deficiencia de **fructosa 1,6-bisfosfatasa** es la **hipoglucemia** inducida por fructosa a pesar de la presencia de reservas altas de glucógeno, debido a que las fructosas 1-fosfato y 1,6 bisfosfato inhiben de modo alostérico la fosforilasa hepática. El secuestro de fosfato inorgánico también conduce a agotamiento de ATP e hiperuricemia.

La fructosa y el sorbitol en el cristalino se relacionan con catarata de origen diabético

En personas con diabetes mellitus hay concentraciones aumentadas tanto de fructosa como de sorbitol en el cristalino que quizás estén implicadas en la patogenia de la **catarata diabética.** La formación de fructosa a partir de glucosa depende de la **vía del sorbitol (poliol)** (que no se encuentra en el hígado) (fig. 21-5); la actividad de dicha vía se incrementa a medida que la concentración de glucosa aumenta en los tejidos que no son sensibles a la insulina, es decir, el cristalino, los nervios periféricos y los glomérulos renales. La **aldosa reductasa** reduce la glucosa a sorbitol, lo cual va seguido por oxidación de este último hacia fructosa en presencia de NAD^+ y sorbitol deshidrogenasa (poliol deshidrogenasa). El sorbitol no se difunde a través de las membranas celulares, sino que se acumula, lo que causa daño de origen osmótico. Al mismo tiempo, hay decremento de las cifras de mioinositol. La acumulación de sorbitol y el agotamiento de mioinositol, así como la catarata diabética, se pueden prevenir mediante inhibidores de la aldosa reductasa en animales de experimentación, pero hasta la fecha no hay evidencia de que los inhibidores sean eficaces para prevenir catarata o neuropatía diabética en seres humanos.

Las deficiencias de enzima en la vía de la galactosa causan galactosemia

En las galactosemias hay incapacidad para metabolizar galactosa, y pueden producirse por defectos hereditarios de la galactocinasa, uridil transferasa, o 4-epimerasa (fig. 21-6A), aunque la deficiencia de **uridil transferasa** es la mejor conocida. La galactosa es un sustrato para la aldosa reductasa, lo que forma galactitol, que se acumula en el cristalino y ocasiona catarata. La enfermedad general es más grave si depende de un defecto de la uridil transferasa, puesto que se acumula galactosa 1-fosfato y agota el fosfato inorgánico en el hígado; por último sobrevienen insuficiencia hepática y deterioro mental. En la deficiencia de uridil transferasa, la epimerasa está presente en cantidades adecuadas, de manera que el paciente galactosémico aún puede formar UDPGal a partir de la glucosa. Esto explica cómo es posible que los niños afectados tengan crecimiento y desarrollo normales pese a las dietas libres de galactosa usadas para controlar los síntomas de la enfermedad.

RESUMEN

- La vía de la pentosa fosfato, presente en el citosol, puede explicar la oxidación completa de glucosa, lo que produce NADPH y CO_2, no así ATP.
- La vía tiene una fase oxidativa, que es irreversible y genera NADPH, y una fase no oxidativa, que es reversible y proporciona precursores de ribosa para la síntesis de nucleótido. La vía completa sólo se encuentra en los tejidos que tienen un requerimiento de NADPH para síntesis reductivas, por ejemplo, lipogénesis o esteroidogénesis, mientras que la fase no oxidativa está presente en todas las células que requieren ribosa.
- En los eritrocitos, la vía tiene una función importante en la prevención de la hemólisis al proporcionar NADPH para mantener el glutatión en el estado reducido como el sustrato para la glutatión peroxidasa.
- La vía del ácido urónico es la fuente de ácido glucurónico para conjugación de muchas sustancias endógenas y exógenas antes de excreción como glucurónidos en la orina y la bilis.
- La fructosa evita el principal paso regulador en la glucólisis, catalizado por la fosfofructocinasa, y estimula la síntesis de ácidos grasos y la secreción hepática de triacilglicerol.
- La galactosa se sintetiza a partir de la glucosa en la glándula mamaria durante la lactancia y en otros tejidos donde es necesaria para la síntesis de glucolípidos, proteoglucanos y glucoproteínas.

REFERENCIAS

Ali M, Rellos P, Cox TM: Hereditary fructose intolerance. J Med Gen 1998;35:353.

Cappellini MD, Fiorelli G: Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet 2008;371:64.

Dunlop M: Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. Kidney Int 2000;77:S3.

Hers HG, Hue L: Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. Annu Rev Bioche 1983;52:617.

Horecker BL: The pentose phosphate pathway. J Biol Chem 2002;277:47965.

Le KA, Tappy L: Metabolic effects of fructose. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2006;9:469.

Leslie ND: Insights into the pathogenesis of galactosemia. Ann Rev Nutr 2003;23:59.

Mayes PA: Intermediary metabolism of fructose. Amer J Clin Nutr 1993;58:754.

Van den Berghe G: Inborn errors of fructose metabolism. Ann Rev Nutr 1994;14:41.

Wong D: Hereditary fructose intolerance. Mol Genet Metab 2005;85:165.

CAPÍTULO

22

Oxidación de ácidos grasos: cetogénesis

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun cuando los ácidos grasos se oxidan hacia acetil-CoA y se sintetizan a partir de esta última, la oxidación de ácidos grasos no es la reversión de su biosíntesis, sino que es un proceso por completo diferente que tiene lugar en un compartimiento separado de la célula. La separación entre la oxidación de los ácidos grasos en las mitocondrias y la biosíntesis en el citosol permite que cada proceso se controle de modo individual y se integre con los requerimientos del tejido. Cada paso en la oxidación de ácidos grasos incluye derivados de acil-CoA, y es catalizado por enzimas separadas, utiliza NAD^+ y FAD como coenzimas, y genera ATP. Es un proceso aerobio; requiere la presencia de oxígeno.

El incremento en la oxidación aumentada de ácidos grasos es una característica de la inanición y de la diabetes mellitus, que conduce a la producción de **cuerpos cetónicos** por el hígado **(cetosis).** Los cuerpos cetónicos son ácidos, y cuando se producen en exceso durante periodos prolongados, como en la diabetes, dan por resultado **cetoacidosis,** que por último es mortal. Dado que la gluconeogénesis depende de la oxidación de ácidos grasos, cualquier deterioro de dicha oxidación da pie a **hipoglucemia**. Esto ocurre en diversos estados de **deficiencia de carnitina** o deficiencias de enzimas esenciales en la oxidación de ácidos grasos, por ejemplo, **carnitina palmitoiltransferasa,** o inhibición de la oxidación de ácidos grasos por venenos, por ejemplo, **hipoglicina**.

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS OCURRE EN LAS MITOCONDRIAS

Los ácidos grasos se transportan en la sangre como ácidos grasos libres (AGL)

Los AGL —también denominados ácidos grasos no esterificados— son ácidos grasos que se encuentran en el **estado no esterificado.** En el plasma, los AGL de cadena más larga se combinan con **albúmina,** y en la célula están fijos a una **proteína de unión a ácido graso** así que, de hecho, nunca son en realidad "libres". Los ácidos grasos de cadena más corta son más hidrosolubles y existen como ácidos no ionizados o como aniones de ácidos grasos.

Los ácidos grasos se activan antes de ser catabolizados

Antes de que los ácidos grasos se puedan catabolizar deben convertirse en un intermediario activo; es el único paso en la degradación completa de un ácido graso que necesita energía proveniente del ATP. En presencia de ATP y coenzima A, la enzima **acil-CoA sintetasa (tiocinasa)** cataliza la conversión de un ácido graso (o AGL) en un "ácido graso activo" o acil-CoA, que usa un fosfato de alta energía con la formación de AMP y PP_i (fig. 22-1). La **pirofosfatasa inorgánica** hidroliza al PP_i, con pérdida de otro fosfato de alta energía, lo que asegura que la reacción general continúe hasta que se complete. Las acil-CoA sintetasas se encuentran en el retículo endoplásmico, los peroxisomas, y dentro y sobre la membrana externa de las mitocondrias.

Los ácidos grasos de cadena larga penetran en la membrana mitocondrial interna como derivados de carnitina

La carnitina (β-hidroxi-γ-trimetilamonio butirato), $(CH_3)_3N^+$—CH_2—CH(OH)—CH_2—COO^-, se encuentra ampliamente distribuida, y es en particular abundante en el músculo. La acil-CoA de cadena larga (o AGL) no puede penetrar en la membrana interna de las mitocondrias. Sin embargo, en presencia de carnitina, la **carnitina palmitoiltransferasa-I,** ubicada en la membrana mitocondrial externa, convierte a la acil-CoA de cadena larga en acilcarnitina, que tiene la capacidad para penetrar la membrana interna y tener acceso al sistema de enzimas de la β-oxidación (fig. 22-1). La **carnitina-acilcarnitina translocasa** actúa como un transportador de intercambio en la membrana interna. La acilcarnitina es transportada hacia adentro, acoplada con el transporte hacia afuera de una molécula de carnitina. A continuación la acilcarnitina reacciona con la CoA, lo cual es catalizado por la **carnitina palmitoiltransferasa-II,** ubicada en el interior de la membrana interna, con lo que vuelve a formarse acil-CoA en la matriz mitocondrial, y se libera carnitina.

LA β-OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS COMPRENDE DIVISIÓN SUCESIVA CON LIBERACIÓN DE ACETIL-CoA

En la β-oxidación (fig. 22-2), dos carbonos a la vez se separan de moléculas de acil-CoA, empezando en el extremo carbonilo. La cadena se rompe entre los átomos de carbono α(2) y β(3) —de ahí el nombre β-oxidación—. Las unidades de dos carbonos que se for-

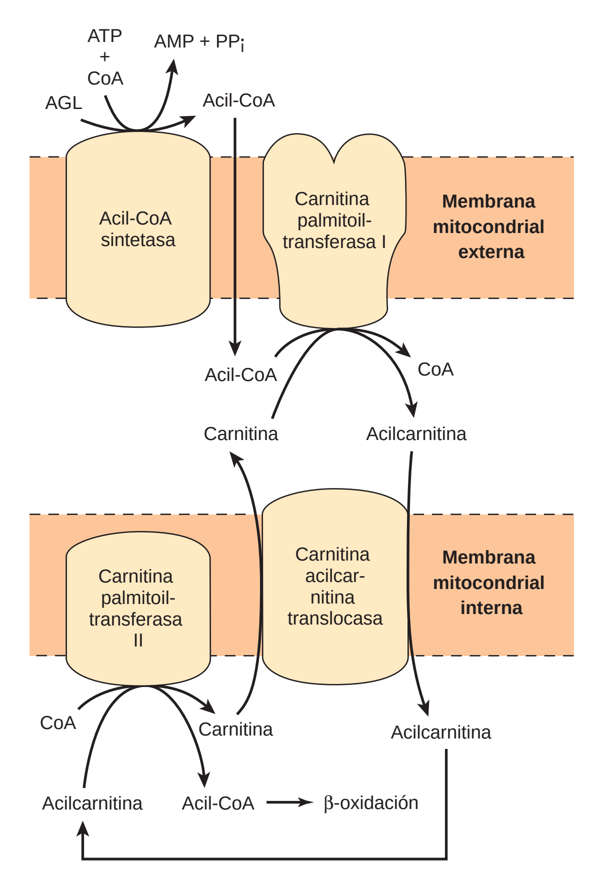


FIGURA 22-1 Función de la carnitina en el transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna. La acil-CoA de cadena larga no puede pasar por la membrana mitocondrial interna, pero su producto metabólico, la acilcarnitina, sí puede hacerlo.

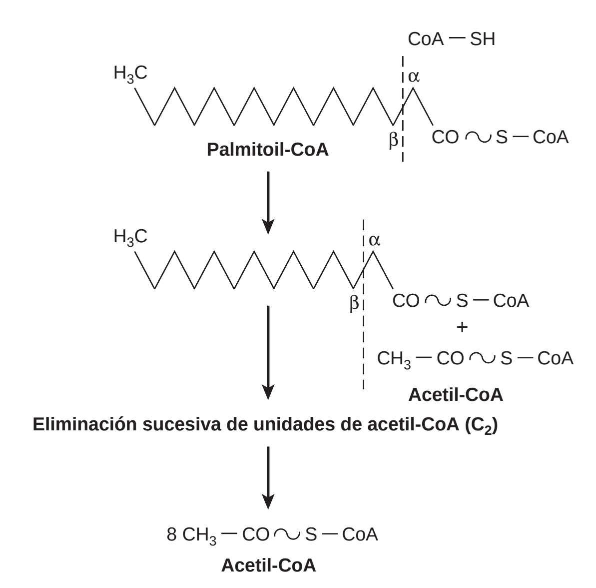


FIGURA 22-2 Perspectiva general de la β-oxidación de ácidos grasos.

man son acetil-CoA; así, la palmitoil-CoA forma ocho moléculas de acetil-CoA.

La secuencia de reacción cíclica genera $FADH_2$ y NADH

Varias enzimas, conocidas en conjunto como "ácido graso oxidasas", se encuentran en la matriz mitocondrial o membrana interna adyacentes a la cadena respiratoria. Éstas catalizan la oxidación de acil-CoA hacia acetil-CoA; el sistema está acoplado con la fosforilación de ADP hacia ATP (fig. 22-3).

El primer paso es la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los átomos de carbono 2(α) y 3(β), lo cual es catalizado por la **acil-CoA deshidrogenasa,** y requiere FAD. Esto origina la formación de Δ^2-*trans*-enoil-CoA y $FADH_2$. La reoxidación de $FADH_2$ por la cadena respiratoria necesita la mediación de otra flavoproteína, llamada **flavoproteína transferidora de electrón** (cap. 12). Se añade agua para saturar el doble enlace y formar 3-hidroxiacil-CoA, lo cual es catalizado por la **Δ^2-enoil-CoA hidratasa.** El derivado 3-hidroxi pasa por otra deshidrogenación en el carbono 3, catalizado por la **l(+)-3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa** para formar el compuesto 3-cetoacil-CoA correspondiente. En este caso, el NAD^+ es la coenzima involucrada. Por último, la 3-cetoacil-CoA se rompe en la posición 2,3 por medio de la **tiolasa** (3-cetoacil-CoA-tiolasa), lo que forma acetil-CoA y una nueva acil-CoA dos carbonos más corta que la molécula de acil-CoA original. La acil-CoA formada en la reacción de división vuelve a entrar a la vía oxidativa en la reacción 2 (fig. 22-3). De este modo, un ácido graso de cadena larga puede degradarse por completo hacia acetil-CoA (unidades C_2). Puesto que la acetil-CoA se puede oxidar hacia CO_2 y agua mediante el ciclo del ácido cítrico (que también se encuentra dentro de las mitocondrias), se logra la oxidación completa de ácidos grasos.

La oxidación de un ácido graso con un número impar de átomos de carbono da acetil-CoA más una molécula de propionil-CoA

Los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono se oxidan por medio de la vía de la β-oxidación, lo que produce acetil-CoA, hasta que queda un residuo de tres carbonos (propionil-CoA). Este compuesto se convierte en succinil-CoA, un constituyente del ciclo del ácido cítrico (fig. 20-2). En consecuencia, **el residuo propionilo de un ácido graso de cadena impar es la única parte glucogénica de un ácido graso.**

La oxidación de ácidos grasos produce una gran cantidad de ATP

El transporte en la cadena respiratoria de electrones desde $FADH_2$ y NADH lleva a la síntesis de cuatro fosfatos de alta energía (cap. 13) para cada uno de los siete ciclos necesarios para la desintegración de palmitato hacia acetil-CoA (7 × 4 = 28). Se forma un total de 8 mol de acetil-CoA y cada uno da lugar a 10 mol de ATP en el momento de la oxidación en el ciclo del ácido cítrico, lo que hace 8 × 10 = 80 mol. Dos deben sustraerse para la activación inicial del ácido graso, lo que da una ganancia neta de 106 moles de ATP por cada mol

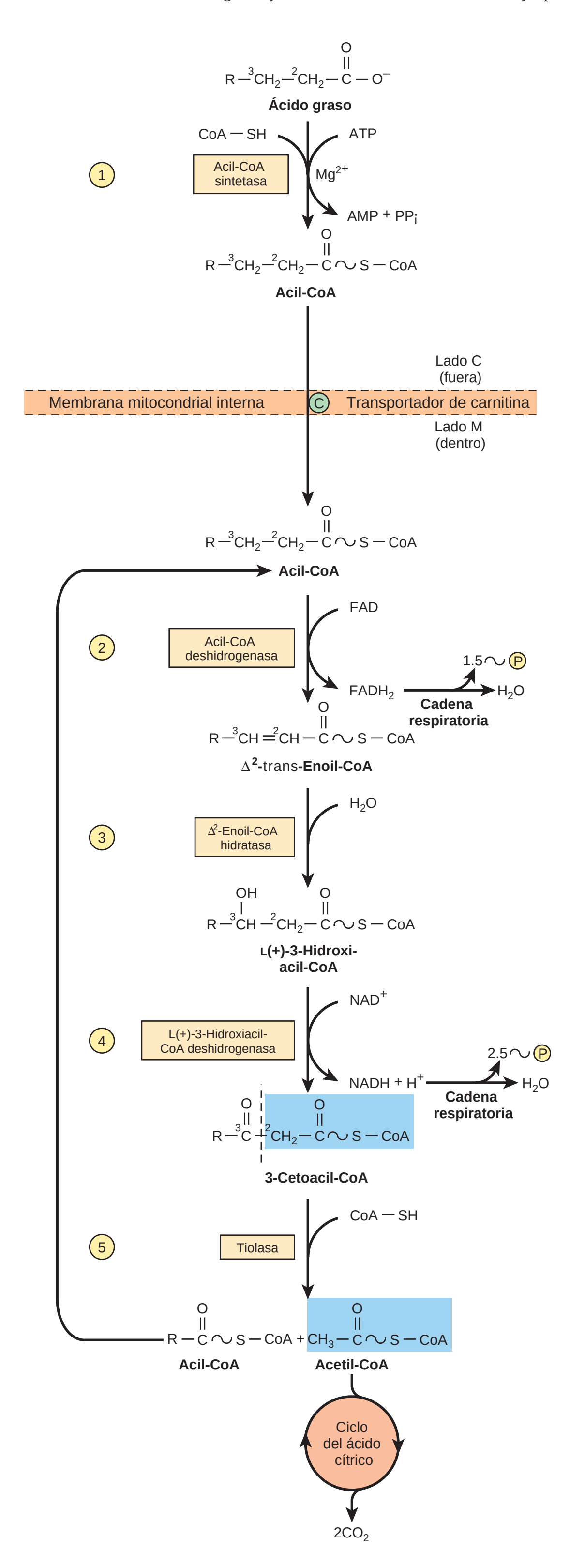


FIGURA 22-3 β-oxidación de ácidos grasos. La acil-CoA de cadena larga pasa por ciclos a través de reacciones 2 a 5; cada ciclo, la tiolasa separa acetil-CoA (reacción 5). Cuando el radical acilo sólo tiene cuatro átomos de carbono de longitud, se forman dos moléculas de acetil-CoA en la reacción 5.

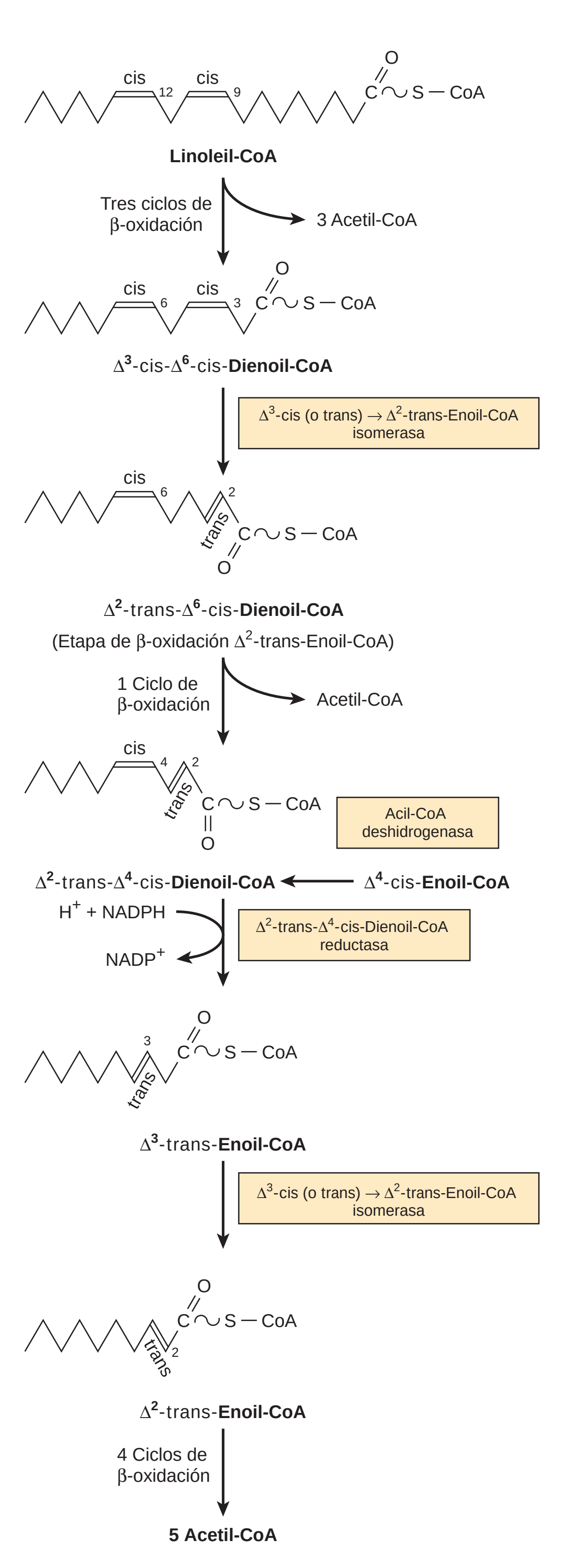


FIGURA 22-4 Secuencia de reacciones en la oxidación de ácidos grasos insaturados, por ejemplo, ácido linoleico. Los ácidos grasos Δ^4-*cis* o los ácidos grasos que forman Δ^4- *cis*-enoil-CoA entran a la vía en la posición mostrada. El NADPH para el paso de la dienoil-CoA reductasa es proporcionado por fuentes intramitocondriales, como la glutamato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y NAD(P)H transhidrogenasa.

de palmitato, o 106 × 51.6* = 5 470 kJ; esto representa 68% de la energía libre de combustión del ácido palmítico.

Los peroxisomas oxidan ácidos grasos de cadena muy larga

Una forma modificada de β-oxidación se encuentra en los **peroxisomas,** y conduce a la formación de acetil-CoA y H_2O_2 (a partir del paso de deshidrogenasa enlazado a flavoproteína), que se desintegra mediante catalasa (cap. 12). Así, esta deshidrogenación en peroxisomas no está enlazada de modo directo a fosforilación y la generación de ATP. El sistema facilita la oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga (p. ej., C_{20}, C_{22}). Estas enzimas se inducen por dietas con alto contenido de grasa, y en algunas especies por fármacos hipolipemiantes como el clofibrato.

Las enzimas en peroxisomas no atacan a ácidos grasos de cadena más corta; la secuencia de β-oxidación termina en octanoil-CoA. Los grupos octanoilo y acetilo se oxidan ambos en las mitocondrias. Otra función de la β-oxidación peroxisómica es acortar la cadena lateral de colesterol en la formación de ácido biliar (cap. 26). Asimismo, los peroxisomas participan en la síntesis de glicerolípidos éter (cap. 24), colesterol y dolicol (fig. 26-2).

LA OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS OCURRE POR MEDIO DE UNA VÍA DE β-OXIDACIÓN MODIFICADA

Los ésteres CoA de estos ácidos se degradan mediante las enzimas que en circunstancias normales se encargan de la β-oxidación hasta que se forma un compuesto Δ^3-*cis*-acil-CoA o uno Δ^4-*cis*-acil-CoA, según la posición de los dobles enlaces (fig. 22-4). El compuesto anterior se isomeriza **(Δ^3*cis* → Δ^2-*trans*-enoil-CoA isomerasa)** hacia la etapa de β-oxidación Δ^2-*trans*-CoA correspondiente para hidratación y oxidación subsiguientes. Cualquier Δ^4-*cis*-acil-CoA que quede, como en el caso del ácido linoleico, o que entre a la vía en este punto después de conversión por la acil-CoA deshidrogenasa hacia Δ^2-*trans*-Δ^4-*cis*-dienoil-CoA, luego se metaboliza como se indica en la figura 22-4.

LA CETOGÉNESIS SUCEDE CUANDO HAY UN ÍNDICE ALTO DE OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL HÍGADO

En condiciones metabólicas relacionadas con un índice alto de oxidación de ácidos grasos, el hígado produce considerables cantidades de **acetoacetato** y **D (–)-3-hidroxibutirato** (β-hidroxibutirato). El acetoacetato pasa de manera continua por descarboxilación espontánea para dar **acetona.** Estas tres sustancias se conocen en conjunto como **cuerpos cetónicos** (también denominados cuerpos de aceto-

*ΔG para la reacción de ATP, como se explica en el capítulo 18.

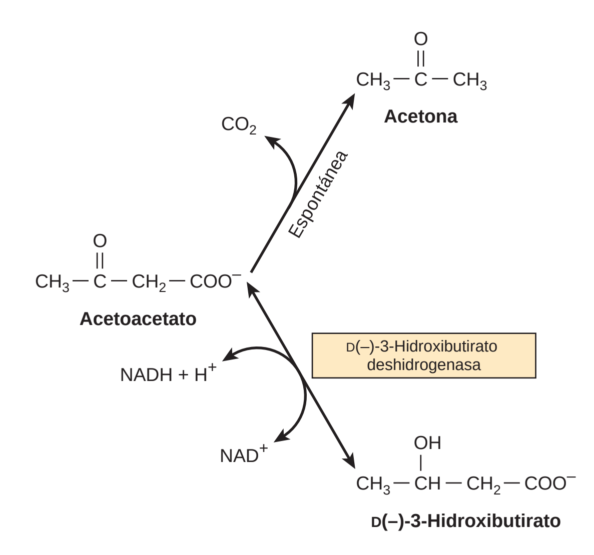


FIGURA 22-5 Interrelaciones de los cuerpos cetónicos. La D (–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa es una enzima mitocondrial.

na o [de modo incorrecto*] "cetonas") (fig. 22-5). El acetoacetato y el 3-hidroxibutirato son interconvertidos por la enzima mitocondrial **D(–)-3-hidroxibutirato deshidrogenasa**; el equilibrio es controlado por la proporción $[NAD^+]/[NADH]$ mitocondrial, es decir, el **estado de redox**. La concentración de cuerpos cetónicos totales en la sangre de mamíferos bien alimentados por lo normal no excede 0.2 mmol/L excepto en rumiantes, en los cuales se forma de manera continua 3-hidroxibutirato a partir de ácido butírico (un producto de la fermentación en el rumen) en la pared del rumen. *In vivo*, el hígado parece ser el único órgano en no rumiantes que contribuye con cantidades importantes de cuerpos cetónicos a la sangre. Los tejidos extrahepáticos los utilizan como sustratos respiratorios. El flujo neto de cuerpos cetónicos desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos da por resultado síntesis hepática activa, junto con utilización muy baja. Ocurre la situación inversa en tejidos extrahepáticos (fig. 22-6).

La 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) es un intermediario en la vía de la cetogénesis

Las enzimas de las cuales depende la formación de cuerpos cetónicos se relacionan sobre todo con las mitocondrias. Dos moléculas de acetil-CoA formadas en la β-oxidación se condensan entre sí para formar acetoacetil-CoA por medio de una reversión de la reacción de la **tiolasa**. La acetoacetil-CoA, que es el material inicial para la cetogénesis, también surge de modo directo a partir de los cuatro carbonos terminales de un ácido graso en el transcurso de la β-oxidación (fig. 22-7). La condensación de acetoacetil-CoA con otra molécula de acetil-CoA mediante la **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa** forma 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA **(HMG-CoA).**

*El término "cetonas" no debe usarse porque el 3-hidroxibutirato no es una cetona y hay cetonas en la sangre que no son cuerpos cetónicos, como el piruvato y la fructosa.

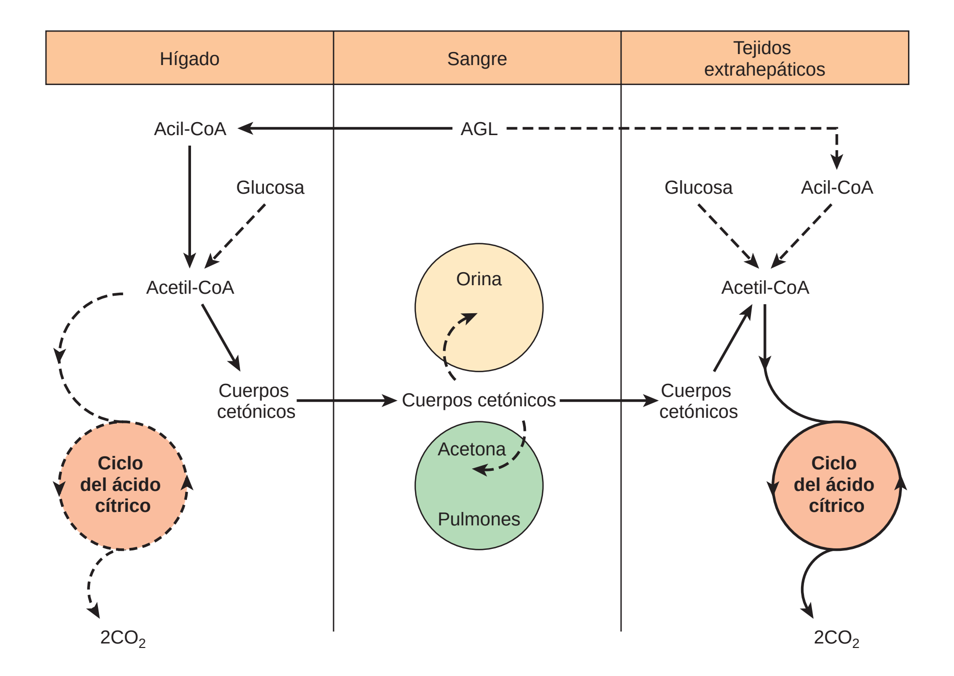


FIGURA 22-6 Formación, utilización y excreción de cuerpos cetónicos. (Las flechas continuas indican la principal vía.)

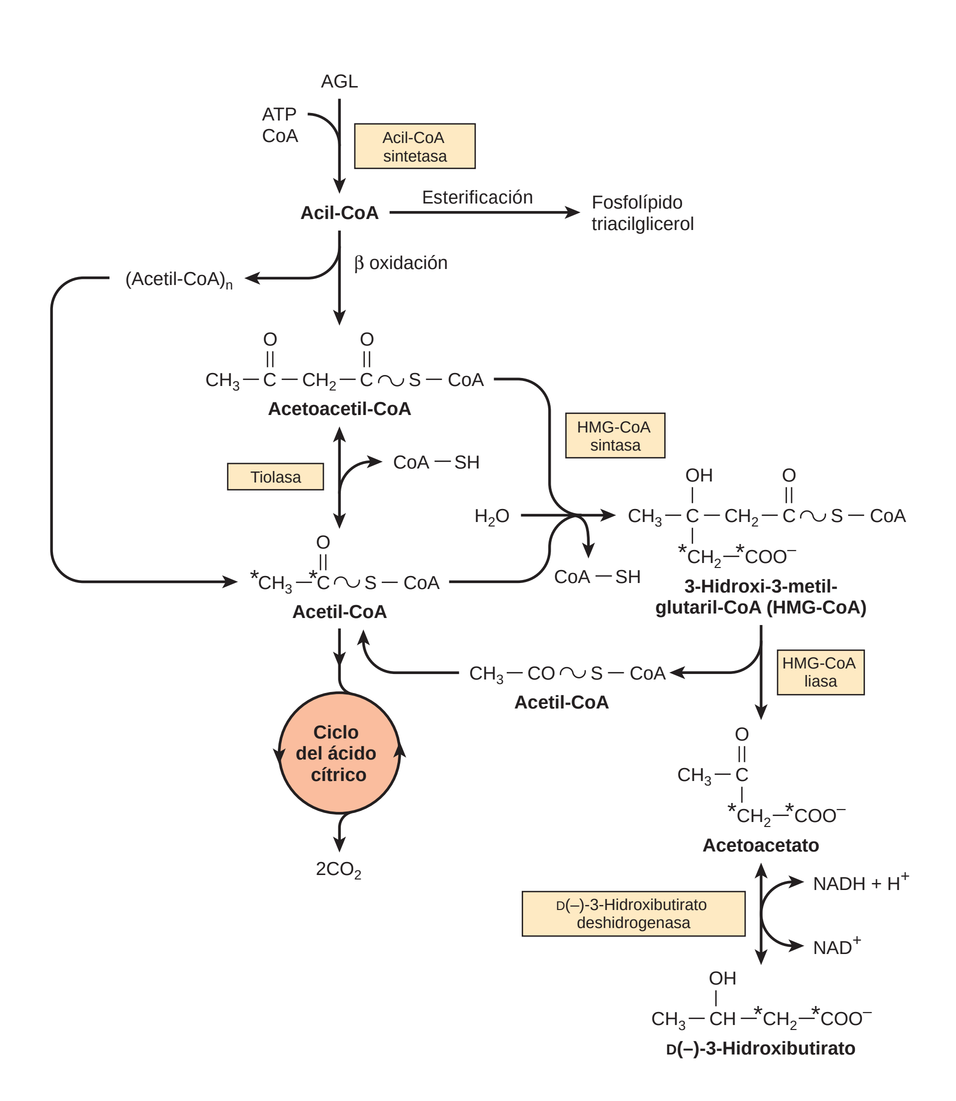


FIGURA 22-7 Vías de la cetogénesis en el hígado. (AGL, ácidos grasos libres.)

La **3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa** hace entonces que la acetil-CoA se separe de la HMG-CoA, lo que deja acetoacetato libre. Los átomos de carbono separados en la molécula de acetil-CoA se derivan de la molécula de acetoacetil-CoA original. **Ambas enzimas deben estar presentes en las mitocondrias para que tenga lugar la cetogénesis.** Esto sólo ocurre en el hígado y el epitelio del rumen. Desde el punto de vista cuantitativo, el D(–)-3-hidroxibutirato es el cuerpo cetónico predominante presente en la sangre y la orina cuando hay cetosis.

Los cuerpos cetónicos sirven como un combustible para tejidos extrahepáticos

Si bien un mecanismo enzimático activo produce acetoacetato a partir de acetoacetil-CoA en el hígado, el acetoacetato, una vez formado, no se puede reactivar de manera directa salvo en el citosol, donde se usa en una vía mucho menos activa como un precursor en la síntesis de colesterol. Esto explica la producción neta de cuerpos cetónicos por el hígado.

En tejidos extrahepáticos, el acetoacetato se activa hacia acetoacetil-CoA por medio de la **succinil-CoA-acetoacetato CoA transferasa.** La CoA se transfiere desde la succinil-CoA para formar acetoacetil-CoA (fig. 22-8). Con la adición de una CoA, la acetoacetil-CoA se divide en dos acetil-CoA mediante tiolasa, y se oxida en el ciclo del ácido cítrico. Si hay incremento de las cifras sanguíneas, la oxidación de cuerpos cetónicos aumenta hasta que, a una concentración de alrededor de 12 mmol/L, saturan la maquinaria oxidativa. Cuando sucede esto, una proporción grande del consumo de oxígeno puede explicarse por la oxidación de cuerpos cetónicos.

En la mayor parte de los casos, la **cetonemia se debe a incremento de la producción de cuerpos cetónicos** por el hígado, más que a una deficiencia de su utilización por los tejidos extrahepáticos. Aun cuando los tejidos extrahepáticos oxidan con facilidad el acetoacetato y el D(–)-3-hidroxibutirato, la acetona es difícil de oxidar *in vivo*, y en gran parte se volatiliza en los pulmones.

En la cetonemia moderada, la pérdida de cuerpos cetónicos por medio de la orina sólo es un porcentaje bajo de la producción y utilización totales de cuerpos cetónicos. Dado que hay efectos parecidos a umbral renal (no hay un umbral verdadero) que varían entre especies e individuos, el método preferido para evaluar la gravedad de la cetosis es la medición de la cetonemia, no de la cetonuria.

LA CETOGÉNESIS ESTÁ REGULADA EN TRES PASOS CRUCIALES

1. La cetosis no sucede *in vivo* a menos que haya un aumento de las cifras de AGL circulantes que surgen a partir de lipólisis de triacilglicerol en tejido adiposo. **Los AGL son los precursores de cuerpos cetónicos en el hígado**; este último, en condiciones tanto posprandiales como de ayuno, extrae alrededor de 30% de los AGL que pasan por él, de modo que a concentraciones altas el flujo que pasa hacia el hígado es considerable. **Por ende, los factores que regulan la movilización de AGL desde el tejido adiposo son importantes en el control de la cetogénesis** (figs. 22-9 y 25-8).

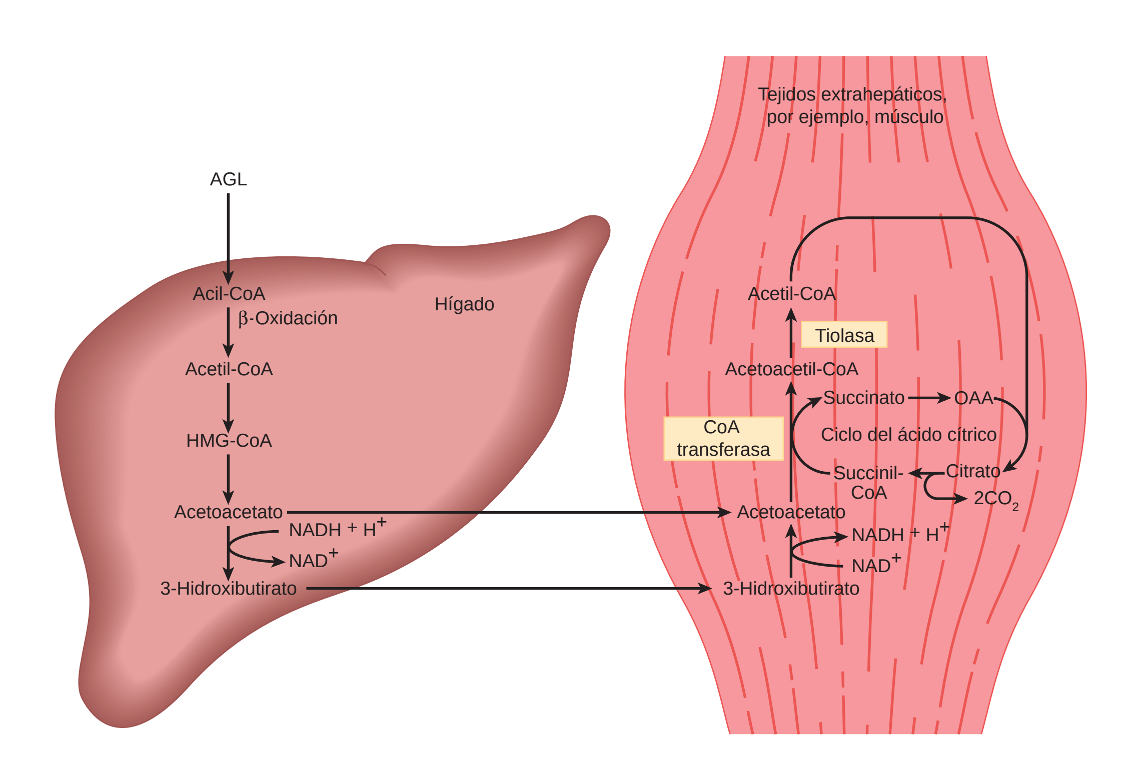


FIGURA 22-8 Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos.

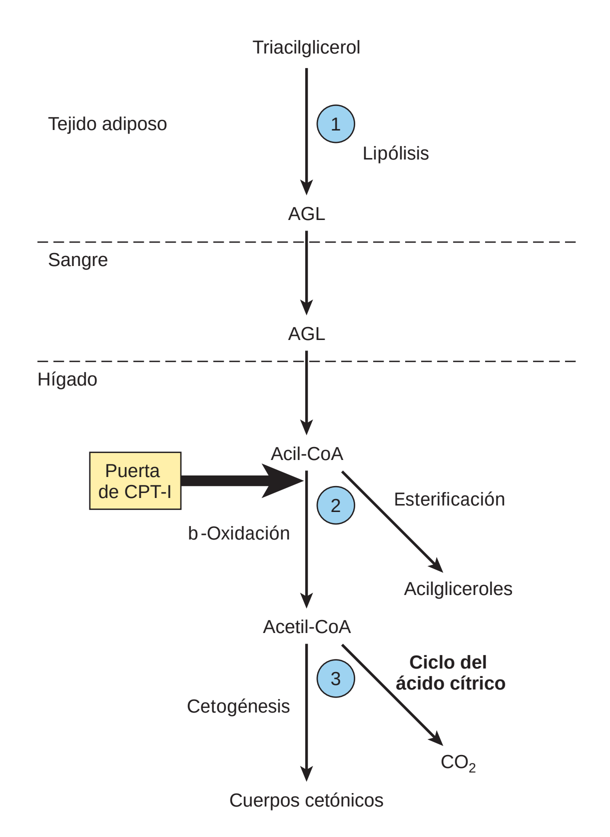


FIGURA 22-9 Regulación de la cetogénesis. ① a ③ muestran tres pasos cruciales en la vía del metabolismo de AGL que determinan la magnitud de la cetogénesis. (CPT-I, carnitina palmitoiltransferasa-I.)

2. Después de su captación por el hígado, los AGL son objeto de **β-oxidación** hacia CO_2 o cuerpos cetónicos, o de **esterificación** hacia triacilglicerol y fosfolípido. Hay regulación de la entrada de ácidos grasos hacia la vía oxidativa mediante la **carnitina palmitoiltransferasa-I** (CPT-I), y el resto de los ácidos grasos captados se esterifica. La actividad de CPT-I es baja en el estado posprandial, lo que da pie a depresión de la oxidación de ácidos grasos, y alta en la inanición, lo que permite que haya incremento de la oxidación de ácidos grasos. La **malonil-CoA,** el intermediario inicial en la biosíntesis de ácidos grasos (fig. 23-1), formado por la acetil-CoA carboxilasa en el estado posprandial, es un potente inhibidor de la CPT-I (fig. 22-10). En estas circunstancias, los FFA entran a la célula hepática en cifras bajas, y casi todos se esterifican hacia acilgliceroles y se transportan hacia afuera del hígado en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Empero, conforme la concentración de AGL aumenta con el inicio de inanición, la acil-CoA inhibe de manera directa a la acetil-CoA carboxilasa, y la [malonil-CoA] disminuye, lo que libera la inhibición de la CPT-I y permite que más acil-CoA pase por β-oxidación. Estos eventos se refuerzan en la inanición por un decremento de la **proporción [insulina]/[glucagon].** Así, la β-oxidación por AGL está controlada por la compuerta de CPT-I hacia la mitocondria, y el saldo de la captación de AGL no oxidado es esterificado.

3. Por su parte, la acetil-CoA formada en la β-oxidación se oxida en el ciclo del ácido cítrico, o entra en la vía de la cetogénesis para formar cuerpos cetónicos. A medida que las cifras de AGL séricos se incrementan, proporcionalmente más AGL se convierte en cuerpos cetónicos, y menos se oxida por medio del ciclo del ácido cítrico hacia CO_2. La distribución de acetil-CoA entre la vía cetogénica y la

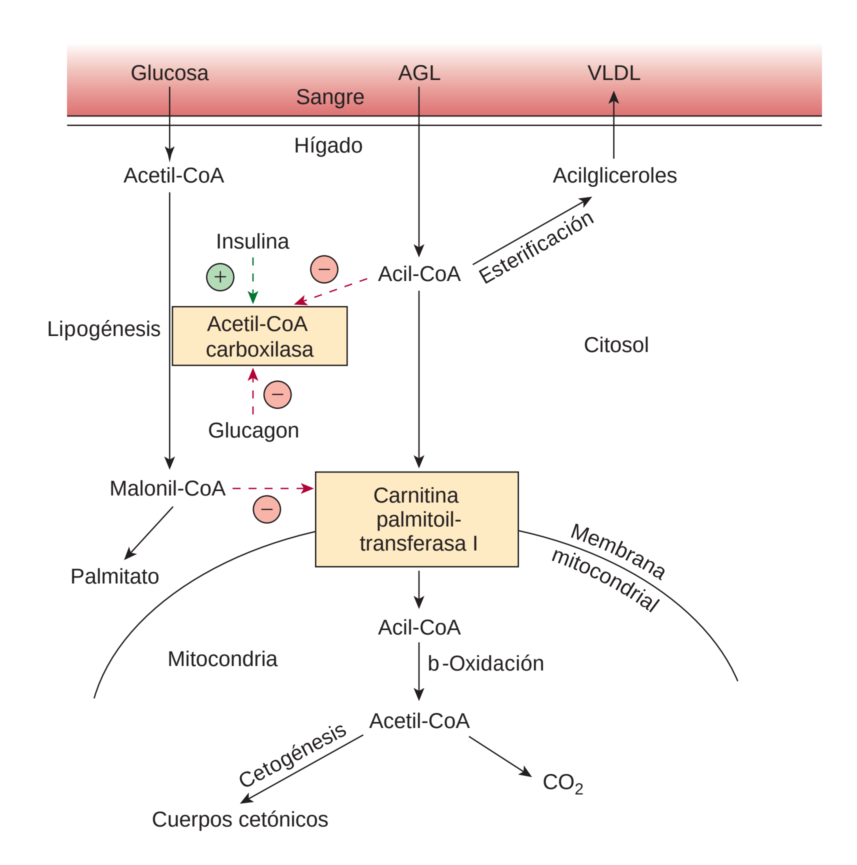


FIGURA 22-10 Regulación de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en el hígado. (AGL, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.) Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados mediante flechas discontinuas y el flujo de sustrato por flechas continuas.

vía de oxidación hacia CO_2 está regulada de modo que la energía libre total captada en ATP que se produce por la oxidación de AGL permanece constante conforme su concentración en el suero cambia. Esto se aprecia cuando se comprende que la oxidación completa de 1 mol de palmitato implica una producción neta de 106 mol de ATP mediante β-oxidación y producción de CO_2 en el ciclo del ácido cítrico (véase antes), mientras que sólo se producen 26 mol de ATP cuando el acetoacetato es el producto terminal, y sólo 21 mol cuando el 3-hidroxibutirato es dicho producto. De esta manera, la cetogénesis puede considerarse un mecanismo que permite al hígado oxidar cantidades crecientes de ácidos grasos dentro de las restricciones de un sistema estrechamente acoplado de fosforilación oxidativa.

Una disminución de las cifras de oxaloacetato, en particular dentro de la mitocondria, es posible que altere la capacidad del ciclo del ácido cítrico para metabolizar acetil-CoA y desviar la oxidación de ácidos grasos hacia la cetogénesis. Esa disminución puede ocurrir debido a un aumento de la proporción [NADH]/[NAD^+] suscitado por incremento de la β-oxidación de ácidos grasos que afecta el equilibrio entre oxaloacetato y malato, lo que lleva a un decremento de la concentración de oxaloacetato, y cuando la gluconeogénesis está alta, lo que sobreviene cuando las cifras sanguíneas de glucosa son bajas. La activación de piruvato carboxilasa, que cataliza la conversión de piruvato en oxaloacetato, por medio de acetil-CoA, alivia en forma parcial este problema, pero en circunstancias como inanición y diabetes mellitus no tratada, los cuerpos cetónicos se producen en exceso, lo que origina cetosis.

ASPECTOS CLÍNICOS

La oxidación de ácidos grasos alterada da lugar a enfermedades asociadas con hipoglucemia

La **deficiencia de carnitina** puede aparecer sobre todo en el recién nacido —de modo particular en lactantes pretérmino— debido a biosíntesis inadecuada o escape renal. Las pérdidas también llegan a suceder en la hemodiálisis. Ello sugiere que en algunos enfermos el requerimiento de carnitina en la dieta es parecido al de una vitamina. Los síntomas de deficiencia son hipoglucemia, que es una consecuencia de oxidación alterada de ácidos grasos, y acumulación de lípido con debilidad muscular. El tratamiento consta de complementos de carnitina por vía bucal.

La **deficiencia** hereditaria de **CPT-I** sólo afecta el hígado y ocasiona una reducción en la oxidación de ácidos grasos y cetogénesis acompañada de hipoglucemia. La **deficiencia de CPT-II** afecta de modo primario el músculo estriado y, cuando es grave, el hígado. Los medicamentos sulfonilurea (**gliburida [glibenclamida]** y **tolbutamida**), usados en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, reducen la oxidación de ácidos grasos y, por consiguiente, la hiperglucemia al inhibir la CPT-I.

Los defectos hereditarios de las enzimas de la β-oxidación y de la cetogénesis también llevan a hipoglucemia no cetósica, coma e hígado graso. Se conocen defectos en la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadenas larga y corta (la deficiencia de la enzima de cadena larga puede ser una causa de **hígado graso agudo del embarazo**). La **deficiencia de 3-cetoacil-CoA tiolasa** y de **HMG-CoA liasa** también afecta la degradación de leucina, un aminoácido cetogénico (cap. 29).

La **enfermedad del vómito jamaicano** se produce por comer la fruta no madura del árbol *Blighia sapida*, que contiene la toxina **hipoglicina**, la cual inactiva a la acil-CoA deshidrogenasa de cadenas media y corta, lo que inhibe la β-oxidación y origina hipoglucemia. La **aciduria dicarboxílica** se caracteriza por la excreción de ácidos C_6–C_{10} ω-dicarboxílicos y por hipoglucemia no cetósica, y se produce por una falta de **acil-CoA deshidrogenasa de cadena media** mitocondrial. La **enfermedad de Refsum** es un raro trastorno neurológico debido a un defecto metabólico que causa la acumulación de ácido fitánico, que se encuentra en productos lácteos, y en la grasa y carne de rumiantes. Se cree que dicho ácido tiene efectos patológicos sobre la función de membrana, la prenilación de proteína y la expresión de gen. El **síndrome de Zellweger (cerebrohepatorrenal)** ocurre en individuos que tienen una rara falta hereditaria de peroxisomas en todos los tejidos. Acumulan ácidos C_{26}–C_{38} polienoicos en el tejido cerebral, y muestran una pérdida generalizada de funciones de peroxisomas. La enfermedad suscita síntomas neurológicos graves y la mayoría de los sujetos muere en el transcurso del primer año de vida.

La cetoacidosis se produce por cetosis prolongada

La presencia de cantidades más altas que lo normal de cuerpos cetónicos en la sangre o la orina constituye la **cetonemia** (hipercetonemia) o **cetonuria,** respectivamente. El estado general se llama **cetosis.** La forma básica de la cetosis sucede en la **inanición,** y comprende agotamiento de los carbohidratos disponibles junto con movilización de AGL. Este modelo general de metabolismo se exagera para producir los estados patológicos que se encuentran en la **diabetes mellitus, la forma tipo 2 de la cual es cada vez más frecuente en países occidentales; la enfermedad de los corderos gemelos,** y la **cetosis en ganado vacuno lactando.** Las formas no patológicas de cetosis se encuentran en situaciones de alimentación con alto contenido de grasa, y luego de ejercicio intenso durante el estado posterior a la absorción.

Los ácidos acetoacético y 3-hidroxibutírico son moderadamente fuertes y deben amortiguarse cuando están presentes en sangre u otros tejidos. Con todo, su excreción continua en gran cantidad agota de manera progresiva la reserva de álcalis, lo que produce **cetoacidosis.** Esto puede ser mortal en la **diabetes mellitus** no controlada.

RESUMEN

- La oxidación de ácidos grasos en las mitocondrias conduce a la generación de grandes cantidades de ATP mediante un proceso llamado β-oxidación que divide unidades de acetil-CoA de modo secuencial a partir de cadenas de acil graso. La acetil-CoA se oxida en el ciclo del ácido cítrico, lo que genera más ATP.
- Los cuerpos cetónicos (acetoacetato, 3-hidroxibutirato y acetona) se forman en las mitocondrias hepáticas, cuando hay un alto índice de oxidación de ácidos grasos. La vía de la cetogénesis incluye síntesis y degradación de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) por medio de dos enzimas clave, la HMG-CoA sintasa y la HMG-CoA liasa.

- Los cuerpos cetónicos son combustibles importantes en tejidos extrahepáticos.
- La cetogénesis está regulada en tres pasos cruciales: 1) el control de la movilización de AGL desde el tejido adiposo; 2) la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa-I en el hígado, que determina la proporción del ujo de ácidos grasos que se oxida en lugar de esteri carse, y 3) partición de acetil-CoA entre la vía de la cetogénesis y el ciclo del ácido cítrico.
- Las enfermedades relacionadas con deterioro de la oxidación de ácidos grasos llevan a hipoglucemia, in ltración grasa de órganos, e hipocetonemia.
- La cetosis es leve en la inanición pero grave en la diabetes mellitus y en la cetosis de rumiantes.

REFERENCIAS

Eaton S, Bartlett K, Pourfarzam M: Mammalian mitochondrial β-oxidation. Biochem J 1996;320:345.

Fukao T, Lopaschuk GD, Mitchell GA: Pathways and control of ketone body metabolism: on the fringe of lipid metabolism. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004;70:243.

Gurr MI, Harwood JL, Frayn K: *Lipid Biochemistry*. Blackwell Publishing, 2002.

Reddy JK, Mannaerts GP: Peroxisomal lipid metabolism. Annu Rev Nutr 1994;14:343.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Wood PA: Defects in mitochondrial beta-oxidation of fatty acids. Curr Opin Lipidol 1999;10:107.

CAPÍTULO

23

Biosíntesis de ácidos grasos y eicosanoides

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los ácidos grasos se sintetizan por medio de un **sistema extramitocondrial,** que se encarga de la síntesis completa de palmitato a partir de acetil-CoA en el citosol. En casi todos los mamíferos, la glucosa es el sustrato primario para la lipogénesis, pero en rumiantes es el acetato, la principal molécula combustible producida por la dieta. En seres humanos no se han informado enfermedades cruciales de la vía. Sin embargo, en la **diabetes mellitus** tipo 1 (insulinodependiente) hay inhibición de la lipogénesis, y las variaciones de su actividad influyen sobre la naturaleza y extensión de la **obesidad**.

Los ácidos grasos insaturados en fosfolípidos de la membrana celular tienen importancia en el mantenimiento de la fluidez de la membrana. Se considera que una proporción entre ácidos grasos poliinsaturados y saturados (proporción P:S) alta en la dieta es beneficiosa para prevenir cardiopatía coronaria. Los tejidos animales tienen capacidad limitada para desaturar ácidos grasos, y requieren ciertos ácidos grasos poliinsaturados provenientes de la dieta, derivados de vegetales. Estos **ácidos grasos esenciales (EFA)** se usan para formar ácidos grasos eicosanoicos (C_{20}), que dan lugar a los **eicosanoides** prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas. Las prostaglandinas median la **inflamación** y el **dolor** e inducen el **sueño;** también regulan la **coagulación de la sangre** y la **reproducción.** Los **antiinflamatorios no esteroideos (AINE)**, como el ácido acetilsalicílico (**aspirina**) y el **ibuprofeno**, actúan al inhibir la síntesis de prostaglandina. Los leucotrienos tienen propiedades de contracción muscular y quimiotácticas, y son importantes en reacciones alérgicas e inflamación.

LA PRINCIPAL VÍA PARA LA SÍNTESIS *DE NOVO* DE ÁCIDOS GRASOS (LIPOGÉNESIS) OCURRE EN EL CITOSOL

Este sistema está presente en muchos tejidos, entre ellos hepático, renal, pulmonar, de la glándula mamaria y adiposo. Sus requerimientos de cofactor incluyen NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina y HCO_3^- (una fuente de CO_2). La **acetil-CoA** es el sustrato inmediato y el **palmitato libre** es el producto terminal.

La producción de malonil-CoA es el paso inicial y controlador en la síntesis de ácidos grasos

El bicarbonato como una fuente de CO_2 se necesita en la reacción inicial para la carboxilación de la acetil-CoA hacia **malonil-CoA** en presencia de ATP y **acetil-CoA carboxilasa**. Esta última tiene un requerimiento de la vitamina B **biotina** (fig. 23-1). La enzima es una **proteína multienzimática** que contiene un número variable de subunidades idénticas, cada una de las cuales contiene biotina, biotina carboxilasa, proteína acarreadora de carboxilo biotina y transcarboxilasa, así como un sitio alostérico regulador. La reacción tiene lugar en dos pasos: 1) carboxilación de biotina que comprende ATP, y 2) transferencia del grupo carboxilo hacia la acetil-CoA para formar malonil-CoA.

El complejo de ácido graso sintasa es un polipéptido que contiene siete actividades enzimáticas

En bacterias y vegetales, las enzimas individuales del sistema de la **ácido graso sintasa** están separadas, y los radicales acilo se encuentran en combinación con la **proteína acarreadora de acilo (ACP).** Empero, en vertebrados, el sistema de sintasa es un complejo polipeptídico de múltiples enzimas que incorpora ACP, que asume la función de CoA. Contiene la vitamina **ácido pantoténico** en forma de 4′-fosfopanteteína (fig. 44-18). El uso de una unidad funcional de múltiples enzimas plantea las ventajas de lograr el efecto de compartamentalización del proceso dentro de la célula sin erigir barreras de permeabilidad y la síntesis de todas las enzimas en el complejo está coordinada, dado que un solo gen la codifica.

En mamíferos, el complejo de ácido graso sintasa es un dímero que incluye dos monómeros idénticos, cada uno de los cuales contiene siete actividades enzimáticas de ácido graso sintasa en una cadena polipeptídica (fig. 23-2). Al principio, una molécula preparadora de acetil-CoA se combina con un grupo —SH de cisteína, lo cual es catalizado por la **acetil transacilasa** (fig. 23-3, reacción 1a). La malonil-CoA se combina con el —SH adyacente en la 4′-fosfopanteteína de la ACP del otro monómero, lo cual es catalizado por la **malonil transacilasa** (reacción 1b), para formar la **enzima acetil (acil)-malonil.** El grupo acetilo ataca al grupo metileno del residuo malonilo, lo cual es catalizado por la **3-cetoacil sintasa,** y libera CO_2; esto forma enzima 3-cetoacil (enzima acetoacetil) (reacción 2) y libera el grupo —SH de la cisteína. La descarboxilación permite que la reacción avance hasta que se completa, lo que impulsa toda la secuencia de reacciones en dirección anterógrada. El grupo 3-cetoacilo se reduce, deshidrata y reduce de nuevo (reacciones 3, 4, 5) para formar la acil-S-enzima saturada correspondiente. Una nueva molécula de malonil-CoA se combina con el —SH de la 4′-fosfopanteteína, lo que desplaza el residuo acilo saturado sobre el grupo —SH de cisteína libre. La secuencia de reacciones se repite seis veces

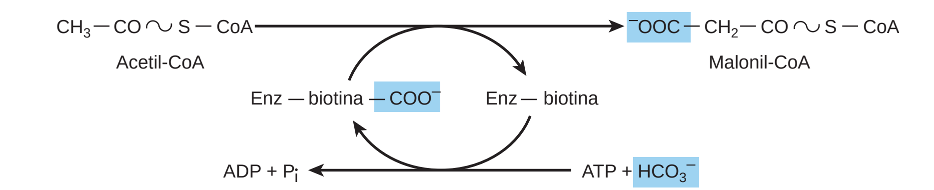


FIGURA 23-1 Biosíntesis de malonil-CoA. (Enz, acetil-CoA carboxilasa.)

más hasta que se ha montado un radical acilo de 16 carbonos saturado (palmitil). Se libera del complejo enzimático mediante la actividad de una séptima enzima en el complejo, la **tioesterasa** (desacilasa). Es necesario que el palmitato libre se active hacia acil-CoA antes de que pueda proceder por medio de cualquier otra vía metabólica. Su destino habitual es la esterificación hacia acilgliceroles, alargamiento o desaturación de cadena, o esterificación hacia colesteril éster. En la glándula mamaria hay una tioesterasa separada específica para residuos acilo de C_8, C_{10} o C_{12}, que después se encuentra en los lípidos de la leche.

La ecuación para la síntesis general de palmitato a partir de acetil-CoA y malonil-CoA es:

$$CH_3CO \cdot S \cdot CoA + 7HOOC \cdot CH\,CO \cdot S \cdot CoA + 14NADPH + 14H^+$$
$$\rightarrow CH_3(CH_2)_{14}COOH + 7CO_2 + 6H_2O + 8CoA \cdot SH + 14NADP^+$$

La acetil-CoA que se usa como un preparador forma los átomos de carbono 15 y 16 del palmitato. La adición de todas las unidades C_2 subsiguientes se efectúa mediante la malonil-CoA. La propionil-CoA actúa como un preparador para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga que tienen un número impar de átomos de carbono, que se encuentran sobre todo en la grasa y la leche de rumiantes.

La principal fuente de NADPH para la lipogénesis es la vía de la pentosa fosfato

El NADPH está involucrado como donador de equivalentes reductores en la reducción de derivados tanto 3-cetoacilo como de 2,3-acilo insaturado (fig. 23-3, reacciones 3 y 5). Las reacciones oxidativas de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) son la principal fuente del

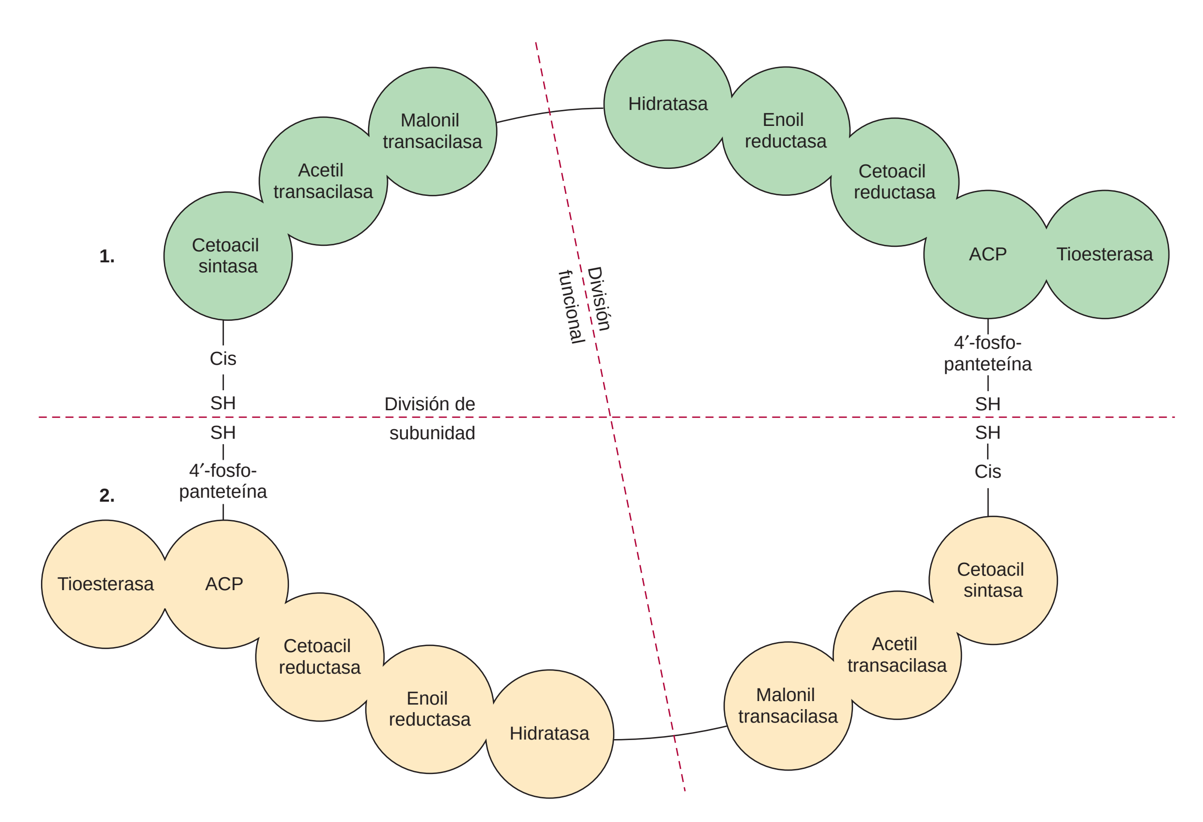


FIGURA 23-2 Complejo multienzimático de ácido graso sintasa. El complejo es un dímero de dos monómeros polipeptídicos idénticos, 1 y 2, cada uno de los cuales consta de siete actividades enzimáticas y la proteína acarreadora de acilo (ACP). (Cis —SH, cisteína tiol.) El —SH de la 4'-fosfopanteteína de un monómero se encuentra en estrecha proximidad al —SH del residuo cisteína de la cetoacil sintasa del otro monómero, lo que sugiere un ordenamiento "cabeza a cola" de los dos monómeros. Aun cuando cada monómero contiene todas las actividades de la secuencia de reacción, la unidad funcional real consta de la mitad de un monómero que interactúa con la mitad complementaria del otro. Así, se producen de manera simultánea dos cadenas acilo.

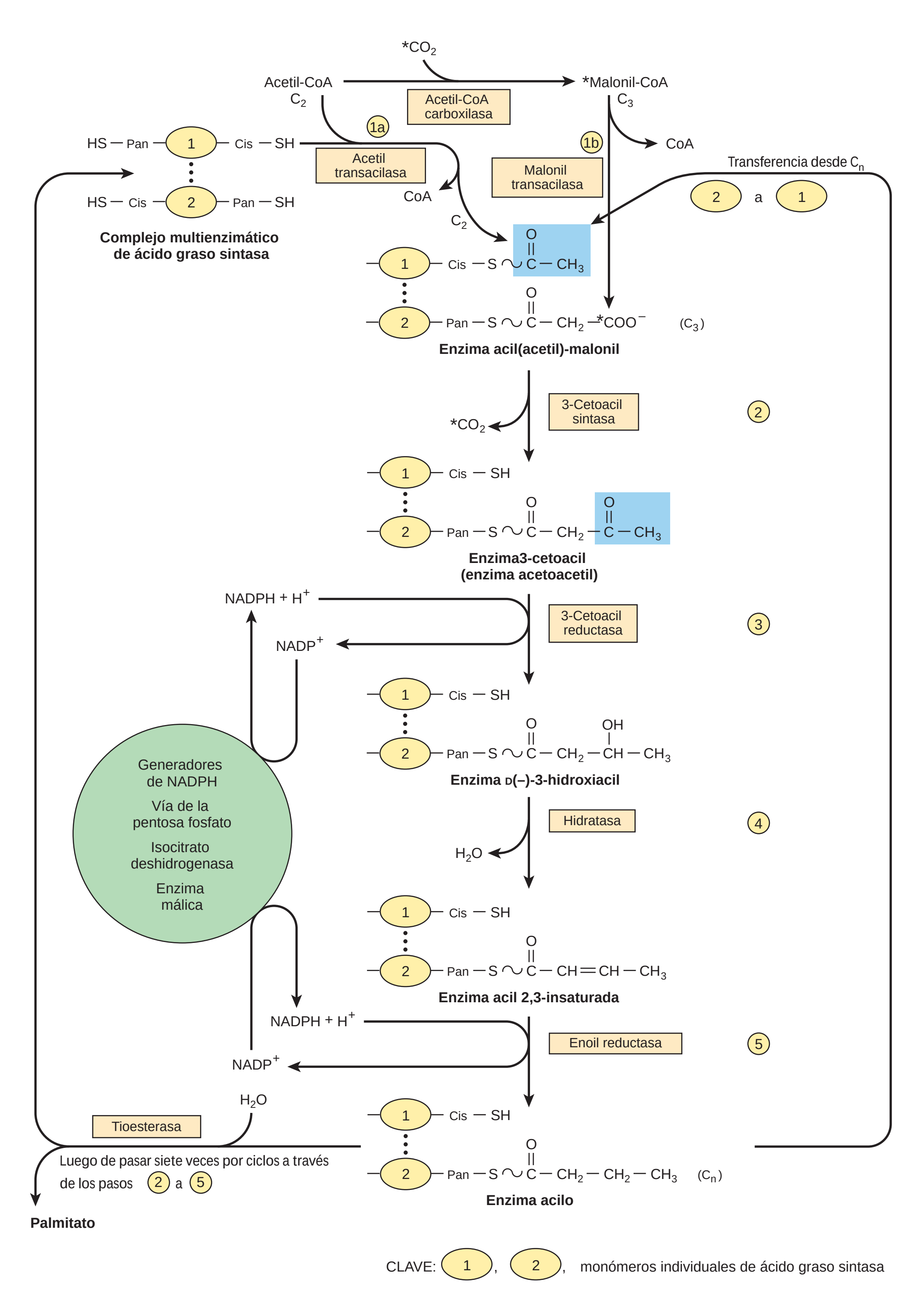


FIGURA 23-3 Biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga. Detalles de cómo la adición de un residuo malonilo hace que la cadena acilo crezca por dos átomos de carbono. (Cis, residuo cisteína; Pan, 4'-fosfopanteteína.) Los bloques resaltados en azul contienen en un inicio una unidad C_2 derivada de acetil-CoA (según se ilustra) y después la unidad C_n formada en la reacción 5.

hidrógeno necesario para la síntesis reductiva de ácidos grasos. Es importante el hecho de que los tejidos especializados en la lipogénesis activa —es decir, el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria en lactancia— también poseen una vía de pentosa fosfato activa. Además, ambas vías metabólicas se encuentran en el citosol de la célula; así, no hay membranas o barreras de permeabilidad contra la transferencia de NADPH. Otras fuentes de este último comprenden la reacción que convierte malato en piruvato catalizada por la **"enzima málica"** (NADP malato deshidrogenasa) (fig. 23-4) y la reacción de **isocitrato deshidrogenasa** extramitocondrial (que quizá no es una fuente considerable, excepto en rumiantes).

La acetil-CoA es el principal bloque de construcción de ácidos grasos

La acetil-CoA se forma a partir de la glucosa por medio de la oxidación de piruvato dentro de las mitocondrias. Con todo, no se difunde con facilidad hacia el citosol extramitocondrial, el principal sitio

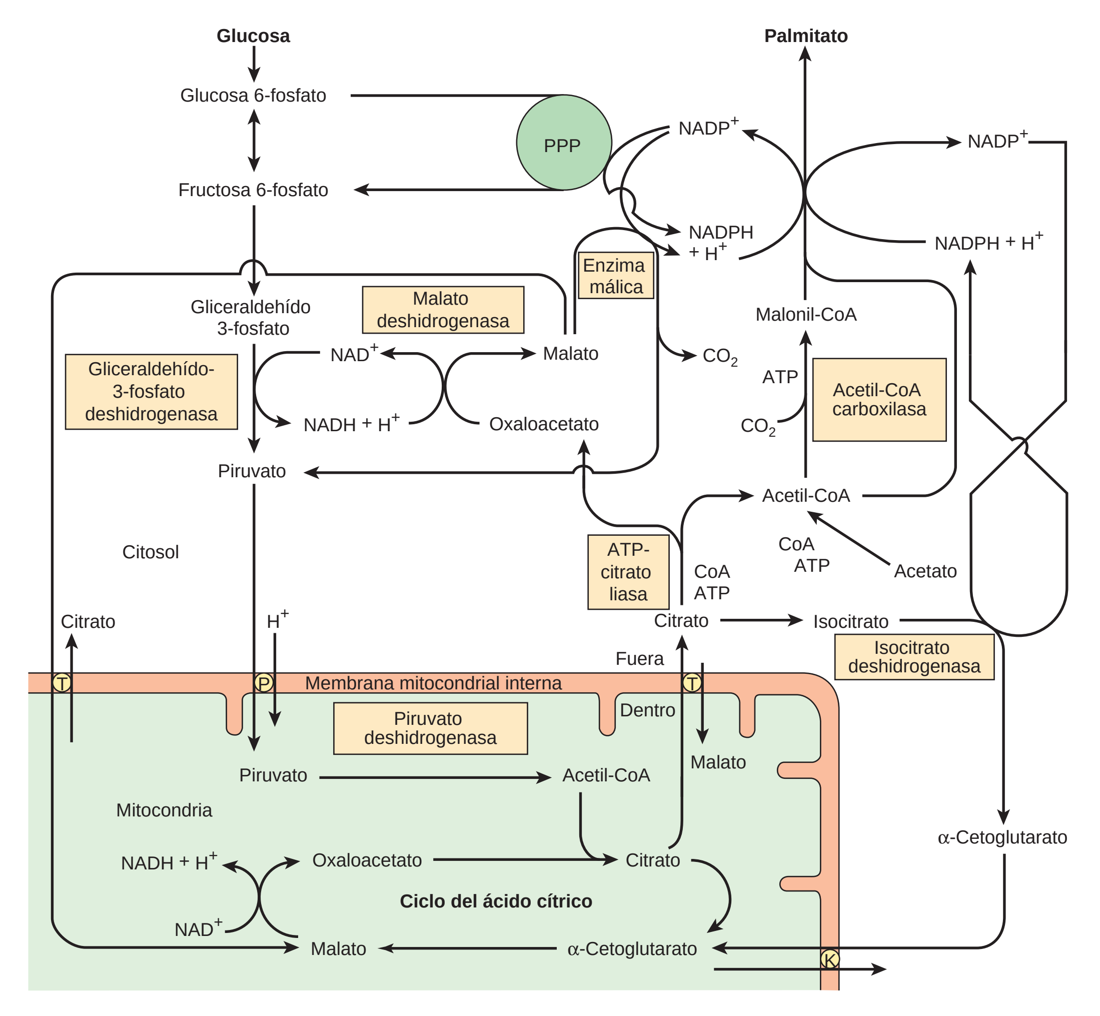


FIGURA 23-4 El suministro de acetil-CoA y NADPH para la lipogénesis. (PPP, vía de la pentosa fosfato; T, transportador de tricarboxilato; K, transportador de α-cetoglutarato; P, transportador de piruvato.)

de síntesis de ácidos grasos. El citrato, que se forma luego de condensación de acetil-CoA con oxaloacetato en el ciclo del ácido cítrico dentro de las mitocondrias, se transloca hacia el compartimiento extramitocondrial mediante el transportador de tricarboxilato, donde en presencia de CoA y ATP, se divide hacia acetil-CoA y oxaloacetato, catalizado por la **ATP-citrato liasa**, que aumenta de actividad en el estado bien alimentado. La acetil-CoA entonces queda disponible para la formación y síntesis de malonil-CoA para palmitato (fig. 23-4). El oxaloacetato resultante puede formar malato por medio de la malato deshidrogenasa enlazada a NADH, lo cual va seguido por la generación de NADPH mediante la enzima málica. El NADPH queda disponible para lipogénesis, y el piruvato puede usarse para regenerar acetil-CoA después de transporte hacia la mitocondria. Esta vía es un medio de transferir equivalentes reductores desde NADH hacia NADP extramitocondriales. De modo alternativo, el malato mismo puede transportarse hacia la mitocondria, donde tiene la capacidad para volver a formar oxaloacetato. Note que el transportador de citrato (tricarboxilato) en la membrana mitocondrial requiere malato para intercambio con citrato (fig. 13-10). Hay poca ATP-citrato liasa o enzima málica en rumiantes, probablemente porque en estas especies el acetato (derivado de la digestión de carbohidratos en el rumen, y activado hacia acetil-CoA fuera de la mitocondria) es la principal fuente de acetil-CoA.

La elongación de cadenas de ácido graso sucede en el retículo endoplásmico

Esta vía (el **"sistema microsómico"**) alarga dos carbonos acil-CoA grasas saturadas e insaturadas (desde C_{10} en adelante), usando malonil-CoA como el donador de acetilo, y NADPH como el reductor, y es catalizada por el sistema de enzimas de **ácido graso elongasa** microsómico (fig. 23-5). La elongación de estearil-CoA en el cerebro se incrementa con rapidez durante la mielinización con el fin de proporcionar ácidos grasos C_{22} y C_{24} para esfingolípidos.

EL ESTADO NUTRICIONAL REGULA LA LIPOGÉNESIS

El carbohidrato excesivo se almacena como grasa en muchos animales en anticipación de periodos de deficiencia calórica, como inanición, hibernación, etc., y para proporcionar energía para uso entre las comidas en animales, incluso seres humanos, que toman sus alimentos a intervalos espaciados. La lipogénesis convierte la glucosa excedente e intermediarios como piruvato, lactato y acetil-CoA, en grasa, lo que ayuda a la fase anabólica de este ciclo de alimentación. El estado nutricional del organismo es el principal factor

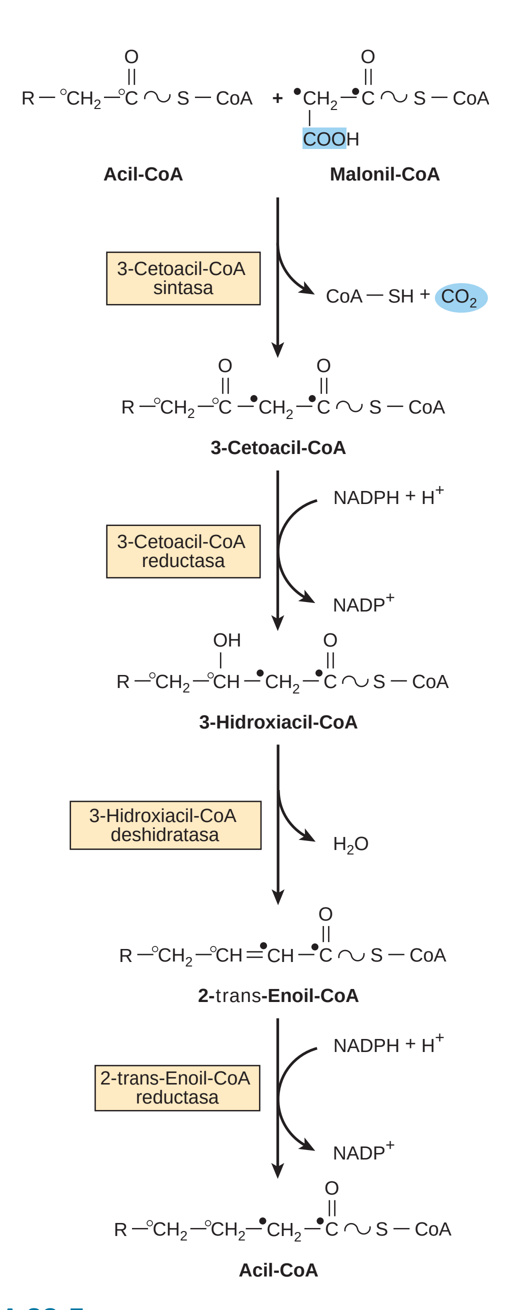


FIGURA 23-5 Sistema de elongasa microsómico para la elongación de cadena de ácido graso. Las reductasas también usan NADH, pero se prefiere NADPH.

que regula el índice de lipogénesis. De esta manera, el índice es alto en el animal bien alimentado cuya dieta contiene una alta proporción de carbohidratos. Es deprimido por la ingestión calórica restringida, dieta con alto contenido de grasa, o una deficiencia de insulina, como en la diabetes mellitus; este tipo de condiciones muestran vínculo con aumento de las concentraciones de AGL en plasma, y se ha demostrado una relación inversa entre la lipogénesis hepática y la concentración de AGL en el suero. Cuando la alimentación consta de sacarosa en lugar de glucosa hay incremento de la lipogénesis, porque la fructosa evita el paso por el punto de control de fosfofructocinasa en la glucólisis, e inunda la vía lipogénica (fig. 21-5).

MECANISMOS A PLAZOS CORTO Y LARGO REGULAN LA LIPOGÉNESIS

La síntesis de ácidos grasos de cadena larga está controlada a corto plazo mediante modificación alostérica y covalente de enzimas, y a largo plazo por cambios de la expresión de gen que rigen los índices de síntesis de enzimas.

La acetil-CoA carboxilasa es la enzima de mayor importancia en la regulación de la lipogénesis

La acetil-CoA carboxilasa es una enzima alostérica y es activada por el **citrato,** cuya concentración aumenta en el estado bien alimentado, y es un indicador de un aporte suficiente de acetil-CoA. El citrato convierte la enzima desde un dímero inactivo hacia una forma polimérica activa, con una masa molecular de varios millones. La desactivación es promovida por fosforilación de la enzima y por moléculas de acil-CoA de cadena larga, un ejemplo de inhibición por retroacción negativa por un producto de una reacción. De este modo, si se acumula acil-CoA porque no se esterifica con suficiente rapidez, o debido a incremento de la lipólisis o a un flujo de AGL hacia adentro del tejido, reducirá de manera automática la síntesis de ácido graso nuevo. La acil-CoA también inhibe el **transportador de tricarboxilato** mitocondrial, lo que impide la activación de la enzima por egreso de citrato desde la mitocondria hacia el citosol.

La acetil-CoA carboxilasa también está regulada por hormonas como **glucagon, epinefrina** e **insulina** por medio de cambios en su estado de fosforilación (véanse los detalles en la figura 23-6).

La piruvato deshidrogenasa también está regulada por la acil-CoA

La acil-CoA da por resultado inhibición de la piruvato deshidrogenasa al inhibir el transportador de intercambio de ATP-ADP de la membrana mitocondrial interna, lo que conduce a aumento de las proporciones [ATP]/[ADP] intramitocondriales y, en consecuencia, a conversión de piruvato deshidrogenasa activa en inactiva (fig. 18-6), lo que regula la disponibilidad de acetil-CoA para lipogénesis. Más aún, la oxidación de acil-CoA debido a incremento de las concentraciones de AGL puede aumentar las proporciones de [acetil-CoA]/[CoA] y [NADH]/[NAD^+] en las mitocondrias, lo que inhibe la piruvato deshidrogenasa.

La insulina también regula la lipogénesis mediante otros mecanismos

La **insulina** estimula la lipogénesis por medio de varios otros mecanismos, así como al incrementar la actividad de acetil-CoA carboxilasa. Aumenta el transporte de glucosa hacia la célula (p. ej., en el tejido adiposo), lo que incrementa la disponibilidad tanto de piruvato para la síntesis de ácidos grasos como de glicerol 3-fosfato para la esterificación de los ácidos grasos recién formados, y convierte también la forma inactiva de la piruvato deshidrogenasa en la forma activa en el tejido adiposo, no así en el hígado. Asimismo, la insulina —mediante su capacidad para deprimir la concentración de cAMP intracelular— **inhibe la lipólisis** en el tejido adiposo y reduce la concentración de AGL y, por ende, de acil-CoA de cadena larga en el plasma, que son inhibidores de la lipogénesis.

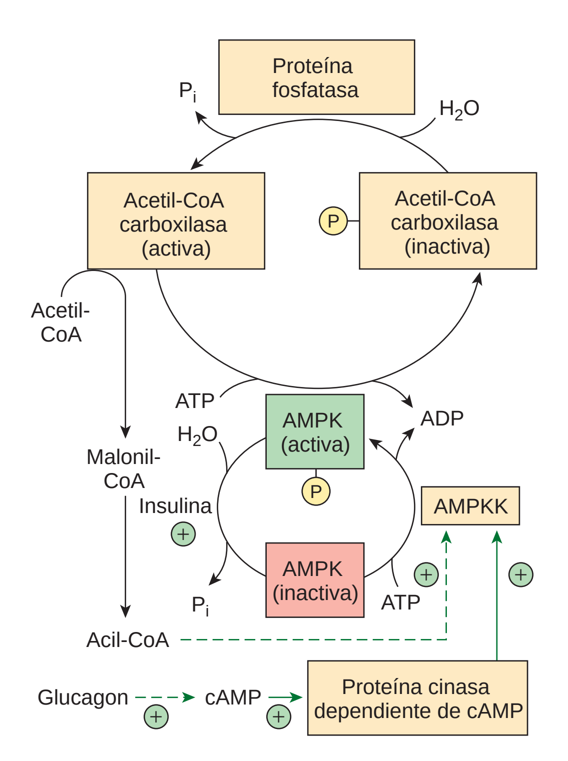


FIGURA 23-6 Regulación de la acetil-CoA carboxilasa por medio de fosforilación/desfosforilación. La enzima es desactivada por fosforilación por la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), que a su vez es fosforilada y activada por la proteína cinasa cinasa activada por AMP (AMPKK). El glucagon (y la epinefrina) incrementan el cAMP y, de este modo, activan esta última enzima mediante la proteína cinasa dependiente de cAMP. También se cree que la acil-CoA activa a la enzima cinasa cinasa. La insulina activa a la acetil-CoA carboxilasa por medio de desfosforilación de AMPK.

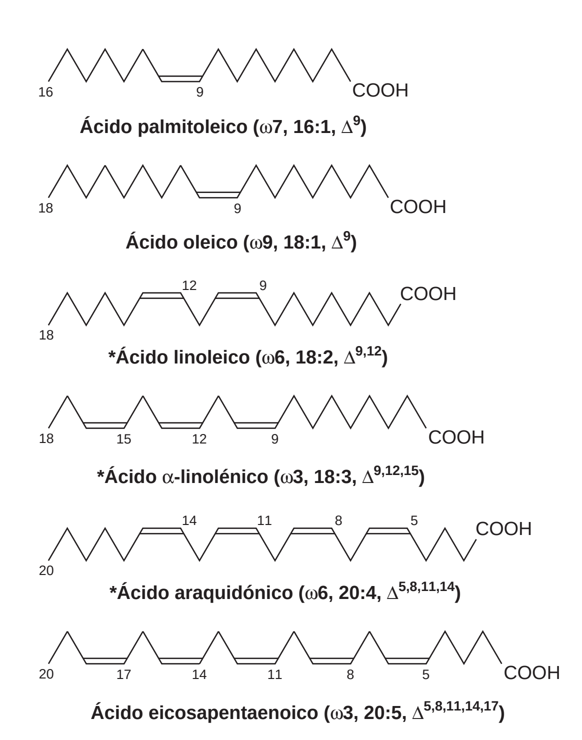


FIGURA 23-7 Estructura de algunos ácidos grasos insaturados. Si bien los átomos de carbono en las moléculas están numerados de manera convencional —desde el carboxilo terminal—, los números ω (p. ej., ω7 en el ácido palmitoleico) se calculan desde el extremo inverso (el metilo terminal) de las moléculas. La información entre paréntesis muestra, por ejemplo, que el ácido α-linolénico contiene dobles enlaces empezando en el tercer carbono desde el metilo terminal, tiene 18 carbonos y 3 dobles enlaces, y tiene estos dobles enlaces en los carbonos noveno, duodécimo y décimo quinto desde el carboxilo terminal. (*Clasificados como “ácidos grasos esenciales”.)

El complejo de ácido graso sintasa y acetil-CoA carboxilasa son enzimas adaptativas

Estas enzimas se adaptan a las necesidades fisiológicas del cuerpo al aumentar de cantidad total en el estado posprandial y al disminuir durante la ingestión de una dieta con alto contenido de grasa y en situaciones como inanición y diabetes mellitus. La **insulina** es una importante hormona que origina expresión de gen e inducción de biosíntesis de enzimas, en tanto que el **glucagon** (por medio del cAMP) antagoniza este efecto. La ingestión de grasas que contienen ácidos grasos poliinsaturados regula de modo coordinado la inhibición de la expresión de enzimas clave de la glucólisis y la lipogénesis. Estos mecanismos para la regulación a plazo más largo de la lipogénesis tardan varios días en manifestarse por completo, e incrementan el efecto directo e inmediato de los AGL y de hormonas como insulina y glucagon.

ALGUNOS ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS NO PUEDEN SINTETIZARSE EN MAMÍFEROS Y SON ESENCIALES DESDE EL PUNTO DE VISTA NUTRICIONAL

La figura 23-7 muestra ciertos ácidos grasos insaturados de cadena larga de importancia metabólica en mamíferos. Otros ácidos grasos polienoicos C_{20}, C_{22} y C_{24} se derivan de los ácidos oleico, linoleico y α-linolénico mediante alargamiento de cadena. Los ácidos palmitoleico y oleico no son esenciales en la dieta porque los tejidos pueden introducir un doble enlace en la posición Δ^9 de un ácido graso saturado. Los **ácidos linoleico** y **α-linolénico** son los únicos ácidos grasos que se sabe que son esenciales para la nutrición completa de muchas especies de animales, incluso seres humanos, y se conocen como los **EFA en el aspecto nutricional.** En casi todos los mamíferos, el **ácido araquidónico** puede formarse a partir de ácido linoleico (fig. 23-10). Pueden introducirse dobles enlaces en las posiciones Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 (cap. 15) en la mayoría de los animales, pero nunca más allá de la posición Δ^9. En contraste, los vegetales tienen la capacidad para sintetizar los EFA desde el punto de vista nutricional al introducir dobles enlaces en las posiciones Δ^{12} y Δ^{15}.

LOS ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS SE SINTETIZAN POR MEDIO DE UN SISTEMA DE Δ^9 DESATURASA

Varios tejidos, entre ellos el hígado, se encargan de la formación de ácidos grasos monoinsaturados no esenciales a partir de ácidos grasos saturados. En un ácido graso saturado el primer doble enlace casi siempre se introduce en la posición Δ^9. Un sistema de enzima —**Δ^9 desaturasa** (fig. 23-8)— en el retículo endoplásmico cataliza la

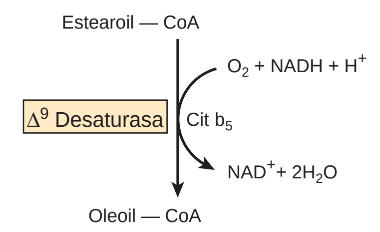


FIGURA 23-8 Δ^9 Desaturasa microsómica.

conversión de palmitoil-CoA o estearoil-CoA en palmitoleoil-CoA u oleoil-CoA, respectivamente. Se necesitan oxígeno y NADH o NADPH para la reacción. Las enzimas parecen ser similares a un sistema de monooxigenasa que incluye el citocromo b_5 (cap. 12).

LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS COMPRENDE SISTEMAS DE ENZIMAS DE DESATURASA Y ELONGASA

Los dobles enlaces adicionales introducidos en ácidos grasos monoinsaturados existentes siempre están separados entre sí por un grupo metileno (están interrumpidos por metileno) salvo en bacterias. Puesto que los animales tienen una Δ^9 desaturasa, tienen capacidad de sintetizar la familia de ácidos grasos insaturados ω9 (ácido oleico) por completo mediante una combinación de alargamiento y desaturación de cadena (fig. 23-9). Aun así, como se mencionó, los ácidos linoleico (ω6) o α-linolénico (ω3) necesarios para la síntesis de los otros miembros de las familias ω6 u ω3 deben obtenerse a partir de la dieta. El linoleato se convierte en araquidonato por medio del **γ-linolenato** mediante la vía que se muestra en la figura 23-10. Así, el requerimiento nutricional de araquidonato puede surtirse si hay linoleato adecuado en la dieta. Hay un gran decremento del sistema de desaturación y alargamiento de cadena en estado de inanición como respuesta a administración de glucagon y epinefrina, y en ausencia de insulina, como en la diabetes tipo 1.

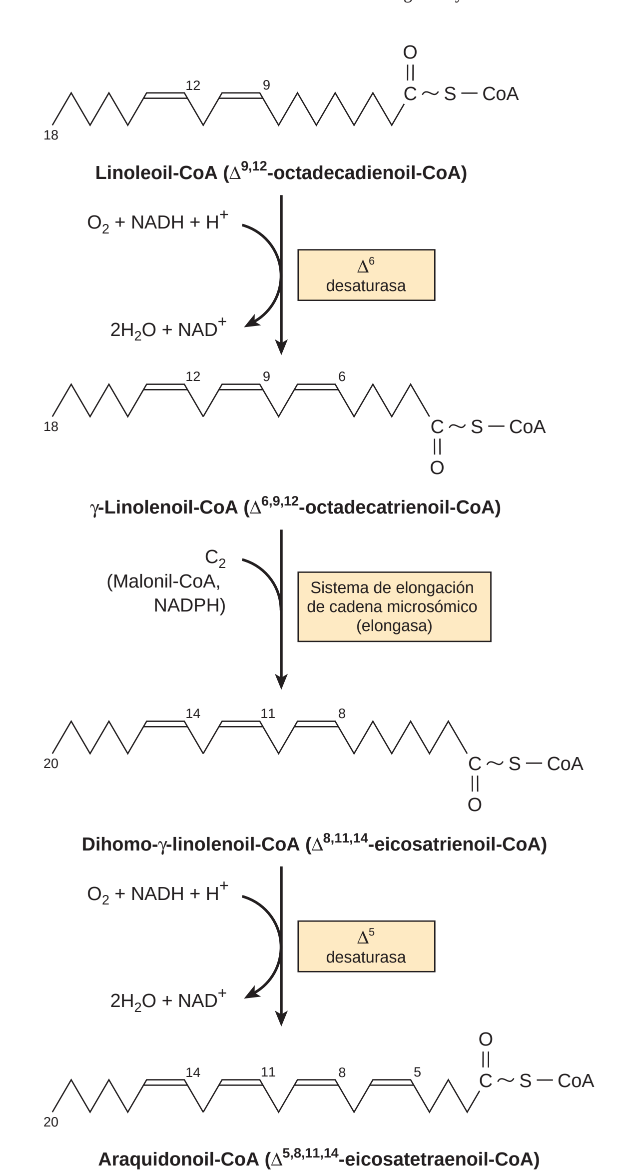


FIGURA 23-10 Conversión de linoleato en araquidonato. Los gatos no pueden efectuar esta conversión debido a la falta de Δ^6 desaturasa y deben obtener el araquidonato en la dieta.

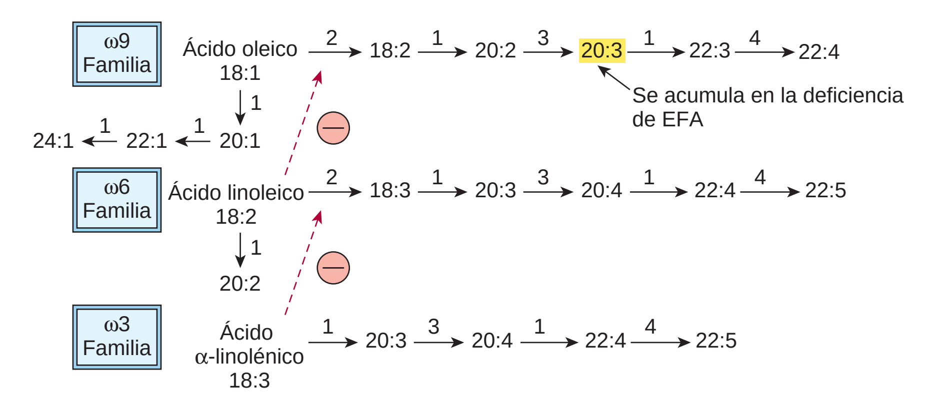


FIGURA 23-9 Biosíntesis de las familias ω9, ω6 y ω3 de ácidos grasos poliinsaturados. Cada paso es catalizado por el sistema de alargamiento de cadena microsómico o de desaturasa: 1, elongasa; 2, Δ^6 desaturasa; 3, Δ^5 desaturasa; 4, Δ^4 desaturasa. (⊖, inhibición.)

SE PRODUCEN SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA CUANDO HAY CARENCIA DE EFA EN LA DIETA

Las ratas alimentadas con una dieta sin lípidos purificada, que contiene vitaminas A y D, muestran índice de crecimiento reducido, y deficiencia reproductiva, que pueden curarse al añadir **ácidos linoleico, α-linolénico** y **araquidónico** a la dieta; dichos ácidos grasos se encuentran en concentraciones altas en aceites vegetales (cuadro 15-2) y en pequeñas cantidades en cadáveres de animales. Los EFA son indispensables para la formación de prostaglandina, tromboxano, leucotrieno y lipoxina (véase más adelante), y tienen varias otras funciones menos bien definidas. Se encuentran en los lípidos estructurales de la célula, a menudo en la posición 2 de fosfolípidos y están relacionados con la integridad estructural de la membrana mitocondrial.

El ácido araquidónico se encuentra presente en membranas y explica 5 a 15% de los ácidos grasos en fosfolípidos. El ácido docosahexaenoico (DHA; ω3, 22:6), que se sintetiza en un grado limitado a partir del ácido α-linolénico, o que se obtiene de manera directa a partir de aceites de pescado, está presente en concentraciones altas en la retina, la corteza cerebral, los testículos y el semen. El DHA es en particular necesario para el desarrollo del cerebro y la retina, y se proporciona mediante la placenta y la leche. Se informa que los pacientes con **retinitis pigmentosa** tienen concentraciones bajas de DHA.

En la **deficiencia de EFA**, los ácidos polienoicos no esenciales de la familia ω9, en particular ácido $\Delta^{5,8,11}$-eicosatrienoico (ω9, 20:3) (fig. 23-9), remplazan a los EFA en fosfolípidos, otros lípidos complejos, y membranas. Es posible emplear la proporción trieno:tetraeno en lípidos plasmáticos para diagnosticar la magnitud de la deficiencia de EFA.

Los ácidos grasos trans están implicados en diversos trastornos

Pequeñas cantidades de ácidos grasos trans-insaturados se encuentran en la grasa de rumiante (p. ej., la grasa de la mantequilla tiene 2 a 7%), donde surgen a partir de la acción de microorganismos en el rumen, pero la principal fuente en la dieta de ser humano son los aceites vegetales parcialmente hidrogenados (p. ej., margarina). Los ácidos grasos trans compiten con los EFA y pueden exacerbar la deficiencia de EFA. Además, son similares en referencia con el aspecto estructural a los ácidos grasos saturados (cap. 15), y tienen efectos comparables en la promoción de hipercolesterolemia y aterosclerosis (caps. 26).

LOS EICOSANOIDES SE FORMAN A PARTIR DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS C_{20}

El araquidonato y algunos otros ácidos grasos poliinsaturados C_{20} dan lugar a **eicosanoides,** compuestos que tienen actividad fisiológica y farmacológica conocidos como **prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT)** y **lipoxinas (LX)** (cap. 15). Desde el punto de vista fisiológico, se considera que actúan como hormonas locales que funcionan por medio de receptores enlazados a proteína G para desencadenar sus efectos bioquímicos.

Existen tres grupos de eicosanoides que se sintetizan a partir de ácidos eicosanoicos C_{20} derivados de los EFA **linoleato** y **α-linolenato,** o de modo directo a partir del araquidonato y eicosapentaenoato de la dieta (fig. 23-11). El araquidonato, que puede obtenerse a partir de la dieta, pero que por lo general se deriva de la posición 2 de fosfolípidos en la membrana plasmática mediante la acción de la fosfolipasa A_2 (fig. 24-6), es el sustrato para la síntesis de PG_2, serie TX_2 **(prostanoides)** por medio de la **vía de la ciclooxigenasa,** o las series LT_4 y LX_4 mediante la **vía de la lipooxigenasa;** las dos vías compiten por el sustrato araquidonato (fig. 23-11).

LA VÍA DE LA CICLOOXIGENASA (COX) SE ENCARGA DE LA SÍNTESIS DE PROSTANOIDES

La síntesis de prostanoides (fig. 23-12) involucra el consumo de dos moléculas de O_2 catalizado por la COX (también llamada **prostaglandina H sintasa**), una enzima que tiene dos actividades, una **ciclooxigenasa** y **peroxidasa.** La COX está presente como dos isoenzimas, **COX-1** y **COX-2.** El producto, un endoperóxido (PGH), se convierte en prostaglandinas D y E, así como en un tromboxano (TXA_2) y prostaciclina (PGI_2). Cada tipo de célula sólo produce un tipo de prostanoide. El AINE **ácido acetilsalicílico** inhibe a la COX-1 y COX-2; otros AINE son la indometacina y el ibuprofeno, y por lo regular inhiben COX al competir con el araquidonato. Dado que la inhibición de la COX-1 causa la irritación del estómago que a menudo muestra vínculo con la ingestión de AINE, se ha intentado crear fármacos que inhiben de manera selectiva a la COX-2 **(coxibs).** Como quiera que sea, por desgracia el éxito de este método ha sido limitado y algunos coxibs se han retirado o suspendido del mercado debido a efectos secundarios indeseables y aspectos de seguridad. La transcripción de la COX-2 —no así de la COX-1— es inhibida por completo por los **corticosteroides antiinflamatorios.**

Los EFA no ejercen todos sus efectos fisiológicos por medio de la síntesis de PG

La función de los EFA en la formación de membrana no se relaciona con la formación de PG. Las PG no alivian síntomas de deficiencia de EFA y la inhibición de la síntesis de PG no suscita una deficiencia de ese tipo.

La COX es una "enzima suicida"

La "desactivación" de la actividad de PG se logra en parte mediante una propiedad notoria de la COX: la de destrucción autocatalizada; esto es, es una "enzima suicida". Más aún, la desactivación de PG por la **15-hidroxiprostaglandina deshidrogenasa** es rápida. El bloqueo de la acción de esta enzima con sulfasalazina o indometacina puede prolongar la vida media de las PG en el cuerpo.

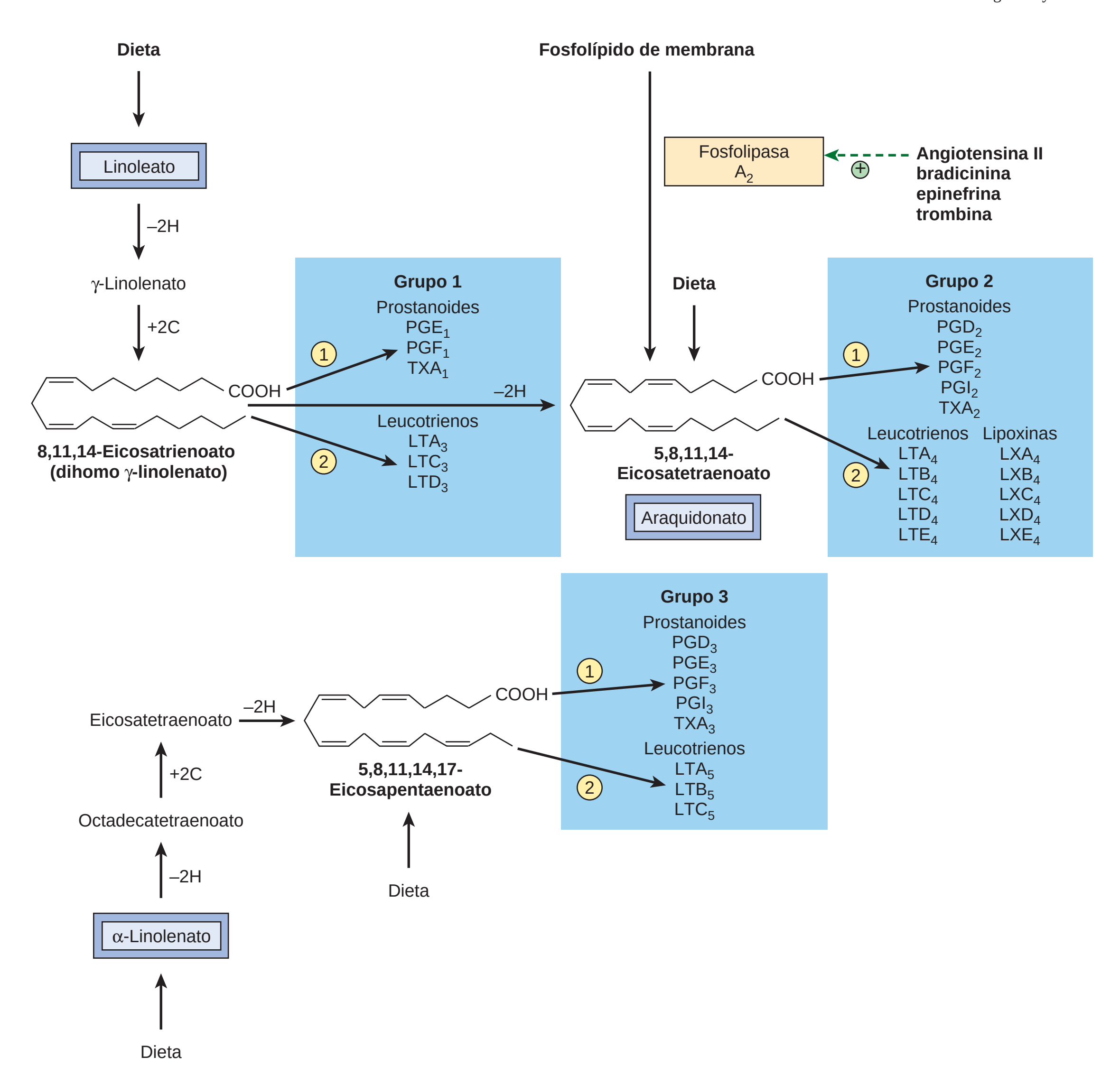


FIGURA 23-11 Los tres grupos de eicosanoides y sus orígenes biosintéticos. (PG, prostaglandina; PGI, prostaciclina; TX, tromboxano; LT, leucotrieno; LX, lipoxina; ①, vía de la ciclooxigenasa; ②, vía de la lipooxigenasa.) El número en subíndice denota el número total de dobles enlaces en la molécula y la serie a la cual pertenece el compuesto.

LOS LEUCOTRIENOS Y LAS LIPOXINAS SE FORMAN POR MEDIO DE LA VÍA DE LA LIPOOXIGENASA

Los **leucotrienos** son una familia de trienos conjugados que se forman a partir de ácidos eicosanoicos en leucocitos, células de mastocitoma, plaquetas y macrófagos mediante la **vía de la lipooxigenasa** en respuesta a estímulos inmunitarios y no inmunitarios. Tres diferentes lipooxigenasas (dioxigenasas) insertan oxígeno en las posiciones 5, 12 y 15 del ácido araquidónico, lo que da lugar a hidroperóxidos (HPETE). Sólo la **5-lipooxigenasa** forma leucotrienos (véanse los detalles en la fig. 23-13). Las **lipoxinas** son una familia de tetraenos conjugados que también surgen en leucocitos. Se forman por medio de la acción combinada de más de una lipooxigenasa (fig. 23-13).

ASPECTOS CLÍNICOS

Los síntomas de deficiencia de EFA en seres humanos comprenden lesiones en la piel y deterioro del transporte de lípidos

En adultos que subsisten con dietas ordinarias no se han informado signos de deficiencias de EFA. De cualquier modo, los lactantes que reciben dietas con leche artificial con bajo contenido de grasa, y los enfermos que se mantienen durante periodos prolongados de modo exclusivo mediante nutrición por vía intravenosa con bajo contenido de EFA muestran síntomas de deficiencia que pueden prevenirse por medio de una ingestión de EFA de 1 a 2% del requerimiento calórico total.

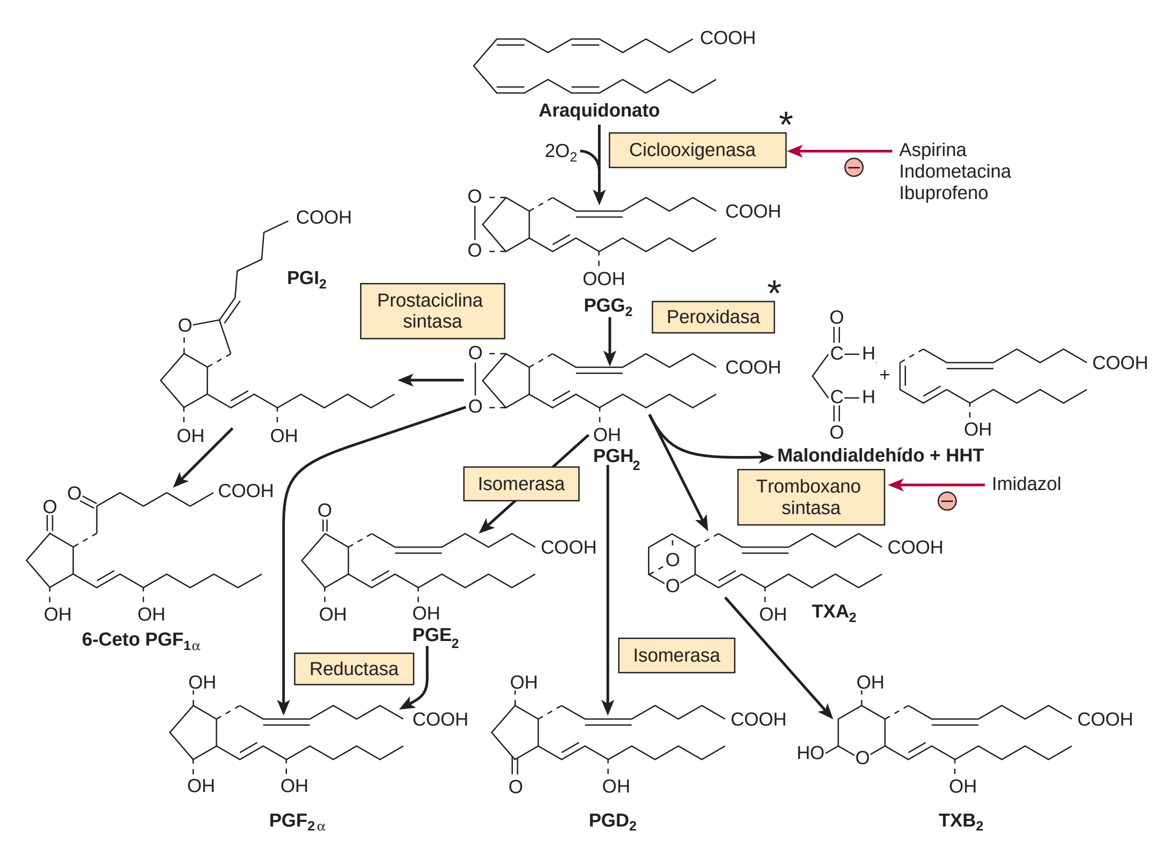


FIGURA 23-12 Conversión del ácido araquidónico en prostaglandinas y tromboxanos de la serie 2 (PG, prostaglandina; TX, tromboxano; PGI, prostaciclina; HHT, hidroxiheptadecatrienoato). (*Estas dos actividades marcadas con asterisco se atribuyen a la enzima ciclooxigenasa [prostaglandina H sintasa]. Suceden conversiones similares en las prostaglandinas y los tromboxanos de las series 1 y 3.)

En varias enfermedades ocurre metabolismo anormal de EFA

El metabolismo anormal de los EFA, que puede estar vinculado con insuficiencia en la dieta, se ha notado en la fibrosis quística, la acrodermatitis enteropática, el síndrome hepatorrenal, síndrome de Sjögren-Larsson, degeneración neonatal de múltiples sistemas, enfermedad de Crohn, cirrosis y alcoholismo, y síndrome de Reye. Se han encontrado concentraciones altas de ácidos polienoicos de cadena muy larga en el cerebro de individuos con síndrome de Zellweger (cap. 22). Las dietas con una proporción P:S (ácido graso poliinsaturado:saturado) alta reducen las concentraciones séricas de colesterol, y se considera que son beneficiosas en cuanto al riesgo de aparición de cardiopatía coronaria.

Los prostanoides son sustancias potentes que tienen actividad biológica

Los **tromboxanos** se sintetizan en plaquetas y en el momento de su liberación producen vasoconstricción y agregación plaquetaria. El ácido acetilsalicílico en dosis bajas inhibe su síntesis de manera específica. Las **prostaciclinas** (PGI_2) se producen en las paredes de los vasos sanguíneos y son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria. De este modo, los tromboxanos y las prostaciclinas son antagonistas. La PG_3 y el TX_3, que se forman a partir del ácido eicosapentaenoico (EPA), inhiben la liberación de araquidonato a partir de fosfolípidos, y la formación de PG_2 y TX_2. La PGI_3 es un antiagregador de plaquetas tan potente como la PGI_2, pero el TXA_3 es un agregador más débil que el TXA_2, lo que modifica el equilibrio de actividad y favorece tiempos de coagulación más prolongados. Una cantidad de PG plasmática tan pequeña como 1 ng/ml ocasiona contracción del músculo liso en animales. Los usos terapéuticos potenciales incluyen prevención de la concepción, inhibición del trabajo de parto al término, terminación del embarazo, prevención de úlceras gástricas o alivio de las mismas, y control de la inflamación y de la presión arterial, y alivio del asma y de la congestión nasal. Además, la PGD_2 es una potente sustancia que promueve el sueño. Las prostaglandinas aumentan el cAMP en las plaquetas, la tiroides, el cuerpo amarillo, hueso fetal, adenohipófisis y pulmones, pero lo reducen en las células de los túbulos renales y en el tejido adiposo (cap. 25).

Los leucotrienos y las lipoxinas son potentes reguladores de muchos procesos morbosos

La sustancia de reacción lenta de anafilaxia **(SRS-A)** es una mezcla de leucotrienos C_4, D_4 y E_4, la cual es un potente constrictor de la musculatura de las vías respiratorias bronquiales. Todos ellos, junto

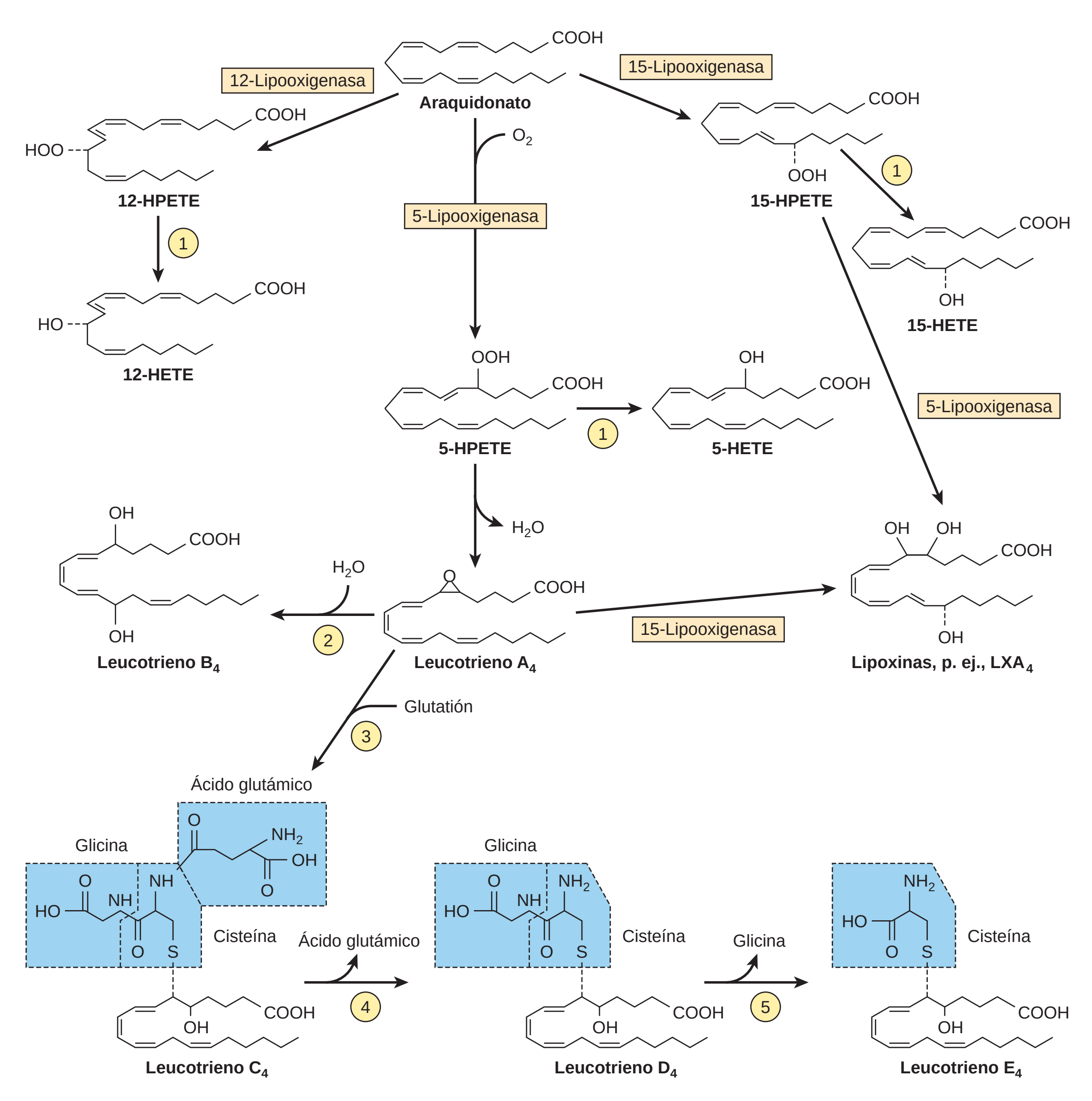


FIGURA 23-13 Conversión del ácido araquidónico en leucotrienos y lipoxinas de la serie 4 mediante la vía de la lipooxigenasa. Ocurren algunas conversiones similares en leucotrienos de las series 3 y 5. (HPETE, hidroperoxieicosatetraenoato; HETE, hidroxieicosatetraenoato; ①, peroxidasa; ②, leucotrieno A_4 epóxido hidrolasa; ③, glutatión *S*-transferasa; ④, γ-glutamiltranspeptidasa; ⑤, cisteinil-glicina dipeptidasa.)

con el **leucotrieno B_4,** también dan por resultado permeabilidad vascular y atracción y activación de leucocitos, y son reguladores importantes en muchas enfermedades que comprenden reacciones inflamatorias o de hipersensibilidad inmediata, como el asma. Los leucotrienos son vasoactivos, y se ha hallado 5-lipooxigenasa en las paredes arteriales. La evidencia apoya una función antiinflamatoria para las lipoxinas en la función vasoactiva e inmunorreguladora, por ejemplo, como compuestos contrarreguladores **(chalonas)** de la respuesta inmunitaria.

RESUMEN

- Dos sistemas de enzimas: acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa, llevan a cabo la síntesis de ácidos grasos de cadena larga (lipogénesis).
- La vía convierte a la acetil-CoA en palmitato, y necesita NADPH, ATP, Mn^{2+}, biotina, ácido pantoténico y como cofactores.
- La acetil-CoA carboxilasa convierte a la acetil-CoA en malonil-CoA, y luego la ácido graso sintasa, un complejo multienzimático, de una cadena polipeptídica con siete actividades enzimáticas separadas, cataliza la formación de palmitato a partir de una molécula de acetil-CoA y siete moléculas de malonil-CoA.
- La lipogénesis está regulada en el paso de la acetil-CoA carboxilasa mediante modi cadores alostéricos, fosforilación/desfosforilación, e inducción y represión de la síntesis de enzima. La enzima es activada de manera alostérica por citrato y desactivada por la acil-CoA de cadena larga. La desfosforilación (p. ej., por medio de insulina) promueve su actividad, mientras que la fosforilación (p. ej., por glucagon o epinefrina) es inhibitoria.

- La biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga insaturados se logra mediante las enzimas desaturasa y elongasa, los cuales introducen dobles enlaces y alargan las cadenas acilo existentes, respectivamente.
- Los animales superiores tienen Δ^4, Δ^5, Δ^6 y Δ^9 desaturasas, pero no pueden insertar nuevos dobles enlaces más allá de la posición 9 de ácidos grasos. De este modo, es necesario que los EFA linoleico (ω6) y α-linolénico (ω3) se obtengan a partir de la dieta.
- Los eicosanoides se derivan de ácidos grasos C_{20} (eicosanoicos) sintetizados a partir de los EFA, y constituyen importantes grupos de compuestos que tienen actividad siológica y farmacológica, entre ellos las prostaglandinas, los tromboxanos, los leucotrienos y las lipoxinas.

REFERENCIAS

Cook HW, McMaster CR: Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002;181–204.

Fischer S: Dietary polyunsaturated fatty acids and eicosanoid formation in humans. Adv Lipid Res 1989;23:169.

Fitzpatrick FA: Cyclooxygenase enzymes: regulation and function. Curr Pharm Des 2004;10:577.

Tong L: Acetyle-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and an attractive target for drug discovery. Cell Mol Life Sci 2005;62:1784.

McMahon B et al: Lipoxins: revelations on resolution. Trends Pharmacol Sci 2001;22:391.

Rangan VS, Smith S: Fatty acid synthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002;151–180.

Sith S, Witkowski A, Joshi AK: Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. Prog Lipid Res 2003;42:289.

Smith WL, Murphy RC: The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxygenase pathways. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*, 4th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2002;341–372.

Wijendran V, Hayes KC: Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. Annu Rev Nutr 2004;24:597.

C A P Í T U L O

24

Metabolismo de acilgliceroles y esfingolípidos

Kathleen M. Botham, PhD, DSc
y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los acilgliceroles constituyen la mayor parte de los lípidos en el cuerpo. Los triacilgliceroles son los principales lípidos en depósitos de grasa y en los alimentos, y en capítulos subsiguientes se describirán sus participaciones en el transporte y almacenamiento de lípidos, y en diversas enfermedades como la obesidad, diabetes e hiperlipoproteinemia. La naturaleza anfipática de los fosfolípidos y esfingolípidos hace que sean ideales como el principal componente lípido de las membranas celulares. Asimismo, los fosfolípidos participan en el metabolismo de muchos otros lípidos. Algunos fosfolípidos tienen funciones especializadas; p. ej., la dipalmitoil lecitina es un componente de importancia del **surfactante pulmonar,** que falta en el **síndrome de dificultad respiratoria** del recién nacido. Los fosfolípidos inositol en la membrana celular actúan como precursores de **segundos mensajeros hormonales,** y el **factor activador de plaquetas** es un alquilfosfolípido. Los glucoesfingolípidos, que contienen esfingosina y residuos azúcar, así como ácido graso, se encuentran en la hojuela externa de la membrana plasmática con sus cadenas de oligosacárido mirando hacia afuera, forman parte del glucocáliz de la superficie celular, y son importantes: 1) en la adherencia y el reconocimiento celular; 2) como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., la toxina que causa el cólera), y 3) como sustancias del grupo sanguíneo ABO. Se han descrito alrededor de una docena de **enfermedades por depósito de glucolípidos** (p. ej., enfermedad de Gaucher, enfermedad de Tay-Sachs), cada una de las cuales se debe a un defecto genético en la vía de la degradación de glucolípidos en los lisosomas.

LA HIDRÓLISIS INICIA EL CATABOLISMO DE LOS TRIACILGLICEROLES

Los triacilgliceroles deben hidrolizarse por medio de una **lipasa** hacia los ácidos grasos y el glicerol que los constituyen, antes de que pueda proceder más catabolismo. Gran parte de esta hidrólisis (lipólisis) ocurre en el tejido adiposo, con liberación de ácidos grasos libres hacia el plasma, donde se encuentran combinados con la albúmina sérica. Esto va seguido por captación de AGL hacia los tejidos (entre ellos hígado, corazón, riñones, músculo, pulmones, testículos y tejido adiposo, aunque no de manera fácil por el cerebro), donde se oxidan o se reesterifican. La utilización de glicerol depende de si esos tejidos poseen **glicerol cinasa**, que se encuentra en cantidades importantes en hígado, riñones, intestino, tejido adiposo pardo y glándula mamaria en lactancia.

LOS TRIACILGLICEROLES Y LOS FOSFOGLICEROLES SE FORMAN MEDIANTE ACILACIÓN DE TRIOSA FOSFATOS

La figura 24-1 esboza las principales vías de la biosíntesis de triacilglicerol y fosfoglicerol. Las sustancias importantes, como los triacilgliceroles, la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina, el fosfatidilinositol y la cardiolipina, un constituyente de las membranas mitocondriales, se forman a partir del **glicerol-3-fosfato**. Suceden puntos de ramificación importantes en la vía en los pasos de fosfatidato y diacilglicerol. A partir de dihidroxiacetona fosfato se derivan fosfogliceroles que contienen un enlace éter (—C—O—C—); los mejor conocidos entre ellos son los plasmalógenos y el factor activador de plaquetas (PAF). El glicerol 3-fosfato y el dihidroxiacetona fosfato son intermediarios en la glucólisis, y hacen una conexión muy importante entre el metabolismo de carbohidratos y de lípidos.

El fosfatidato es el precursor común en la biosíntesis de triacilgliceroles, muchos fosfogliceroles y cardiolipina

Antes de que tanto el glicerol como los ácidos grasos se puedan incorporar hacia acilgliceroles, es necesario que se activen por ATP. La **glicerol cinasa** cataliza la activación de glicerol hacia *sn*-glicerol 3-fosfato. Si la actividad de esta enzima falta o es baja, como en

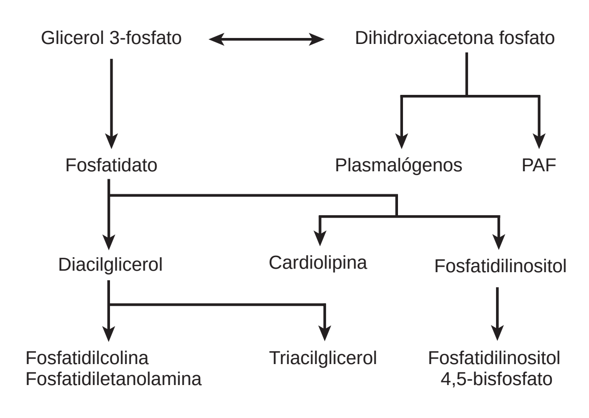


FIGURA 24-1 Perspectiva general de la biosíntesis de acilglicerol. (PAF, factor activador de plaquetas.)

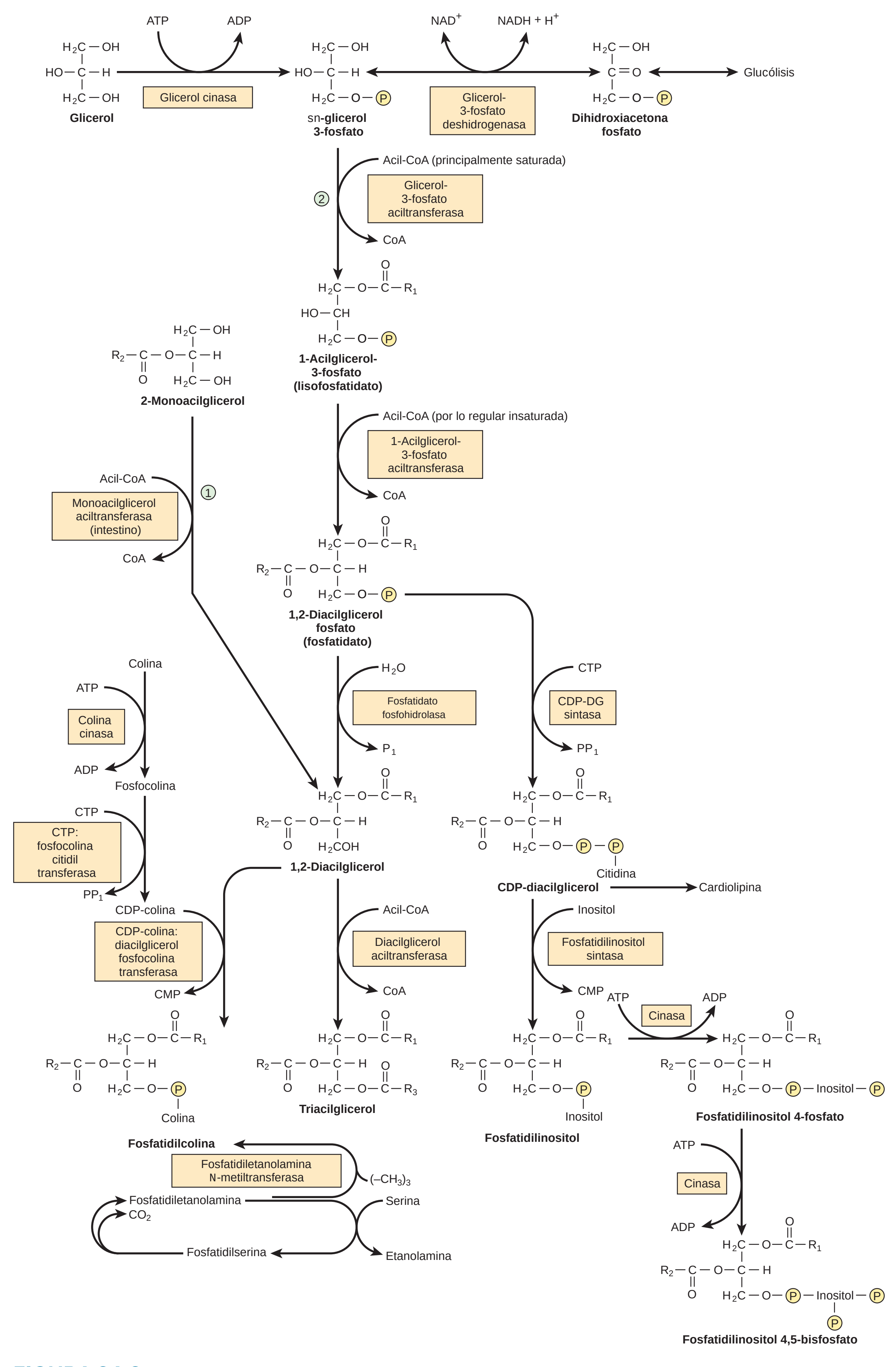


FIGURA 24-2 Biosíntesis de triacilglicerol y fosfolípidos. (①, vía del monoacilglicerol; (②, vía del glicerol fosfato.) La fosfatidiletanolamina puede formarse a partir de etanolamina mediante una vía similar a la que se muestra para la formación de fosfatidilcolina a partir de colina.

músculo o tejido adiposo, la mayor parte del glicerol 3-fosfato se forma a partir de dihidroxiacetona fosfato por medio de la **glicerol-3-fosfato deshidrogenasa** (fig. 24-2).

Biosíntesis de triacilgliceroles

Dos moléculas de acil-CoA, formadas por la activación de ácidos grasos por la **acil-CoA sintetasa** (cap. 22), se combinan con glicerol 3-fosfato para formar **fosfatidato** (1,2-diacilglicerol fosfato). Esto tiene lugar en dos etapas, catalizadas por la **glicerol-3-fosfato aciltransferasa** y por la **1-acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa**. La **fosfatidato fosfohidrolasa** y la **diacilglicerol aciltransferasa (DGAT)** convierten el fosfatidato en 1,2-diacilglicerol, y después en triacilglicerol. La DGAT cataliza el único paso específico para la síntesis de triacilglicerol y se cree que es limitante en casi todas las circunstancias. En la mucosa intestinal, la **monoacilglicerol aciltransferasa** convierte el **monoacilglicerol** en 1,2-diacilglicerol en la **vía del monoacilglicerol.** Casi toda la actividad de estas enzimas reside en el retículo endoplásmico, pero parte se encuentra en las mitocondrias. La fosfatidato fosfohidrolasa se encuentra sobre todo en el citosol, pero la forma activa de la enzima está unida a membrana.

En la biosíntesis de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina (fig. 24-2), la colina o la etanolamina debe activarse primero mediante fosforilación por ATP seguida por enlace a difosfato de citidina (CDP). La CDP-colina o CDP-etanolamina resultante reacciona con 1,2-diacilglicerol para formar fosfatidilcolina o fosfatidiletanolamina, respectivamente. La fosfatidilserina se forma a partir de la fosfatidiletanolamina de modo directo por medio de reacción con serina (fig. 24-2). La fosfatidilserina puede volver a formar fosfatidiletanolamina mediante descarboxilación. Una vía alternativa en el hígado permite que la fosfatidiletanolamina dé lugar de manera directa a fosfatidilcolina por medio de metilación progresiva del residuo etanolamina. A pesar de estas fuentes de colina, se considera que es un nutriente esencial en muchas especies de mamíferos, aunque esta certeza no se ha establecido en seres humanos.

La disponibilidad de AGL impulsa la regulación de la biosíntesis de triacilglicerol, fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. Los AGL que escapan a la oxidación se convierten de preferencia en fosfolípidos y cuando este requerimiento se satisface se usan para la síntesis de triacilglicerol.

Un fosfolípido presente en las mitocondrias es la **cardiolipina** (difosfatidilglicerol; fig. 15-8), la cual se forma a partir del fosfatidilglicerol que, a su vez, se sintetiza a partir del CDP-diacilglicerol (fig. 24-2) y glicerol 3-fosfato de acuerdo con el esquema que se muestra en la figura 24-3. La cardiolipina, que se encuentra en la membrana interna de las mitocondrias, tiene una participación clave en la estructura y función mitocondriales, y se cree también que participa en la muerte celular programada **(apoptosis).**

Biosíntesis de glicerol éter fosfolípidos

Esta vía se encuentra en peroxisomas. La dihidroxiacetona fosfato es el precursor de la porción glicerol de los glicerol éter fosfolípidos (fig. 24-4). Este compuesto se combina con acil-CoA para dar 1-acildihidroxiacetona fosfato. El enlace éter se forma en la reacción siguiente, y origina 1-alquildihidroxiacetona fosfato, que luego se convierte en 1-alquil-glicerol 3-fosfato. Después de acilación adicional en la posición 2, el 1-alquil-2-acilglicerol 3-fosfato (análogo al

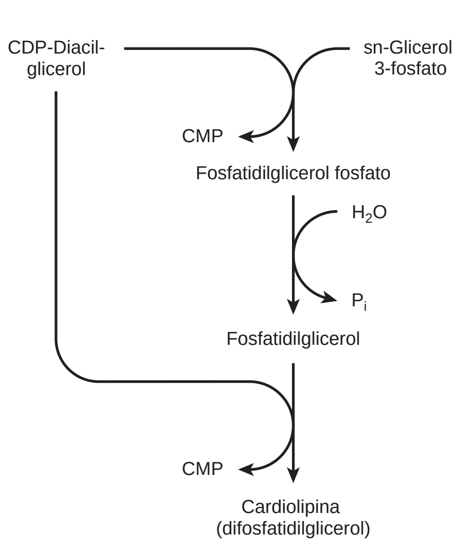


FIGURA 24-3 Biosíntesis de cardiolipina.

fosfatidato en la fig. 24-2) resultante se hidroliza para dar el derivado glicerol libre.

Los **plasmalógenos**, que comprenden gran parte de los fosfolípidos en las mitocondrias, se forman por desaturación del derivado 3-fosfoetanolamina análogo (fig. 24-4). El **factor activador de plaquetas (PAF)** (1-alquil-2-acetil-*sn*-glicerol-3-fosfocolina) se sintetiza a partir del derivado 3-fosfocolina correspondiente. Este factor se forma en muchas células sanguíneas y en otros tejidos, y agrega plaquetas a concentraciones de apenas 10^{-11} mol/L. También tiene propiedades hipotensivas y ulcerogénicas, y participa en diversas respuestas biológicas, entre ellas inflamación, quimiotaxis y fosforilación de proteína.

La fosfolipasa permite la degradación y el remodelado de fosfogliceroles

Aun cuando los fosfolípidos se degradan de modo activo, cada porción de la molécula muestra recambio a un índice diferente; p. ej., el tiempo de recambio del grupo fosfato es diferente del tiempo de recambio del grupo 1-acilo. Esto se debe a la presencia de enzimas que permiten degradación parcial seguida por resíntesis (fig. 24-5). La **fosfolipasa A_2** cataliza la hidrólisis de glicerofosfolípidos para formar un AGL y lisofosfolípido que, a su vez, se puede volver a acilar por la acil-CoA en presencia de una aciltransferasa. De manera alternativa, el lisofosfolípido (p. ej., lisolecitina) es atacado por la lisofosfolipasa, lo que forma la base glicerilo fosforilo correspondiente, que entonces puede ser dividida por una hidrolasa, lo que libera glicerol 3-fosfato más base. Las **fosfolipasas A_1, A_2, B, C** y **D** atacan los enlaces indicados en la figura 24-6. La **fosfolipasa A_2** se encuentra en el líquido pancreático y en el veneno de serpiente, así como en muchos tipos de células; la **fosfolipasa C** es una de las principales toxinas secretadas por bacterias, y se sabe que la **fosfolipasa D** participa en la transducción de señal en mamíferos.

La **lisolecitina (lisofosfatidilcolina)** puede formarse mediante una ruta alternativa que involucra la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT).** Esta enzima, que se encuentra en el plasma, cataliza la transferencia de un residuo ácido graso desde la posición 2 de la

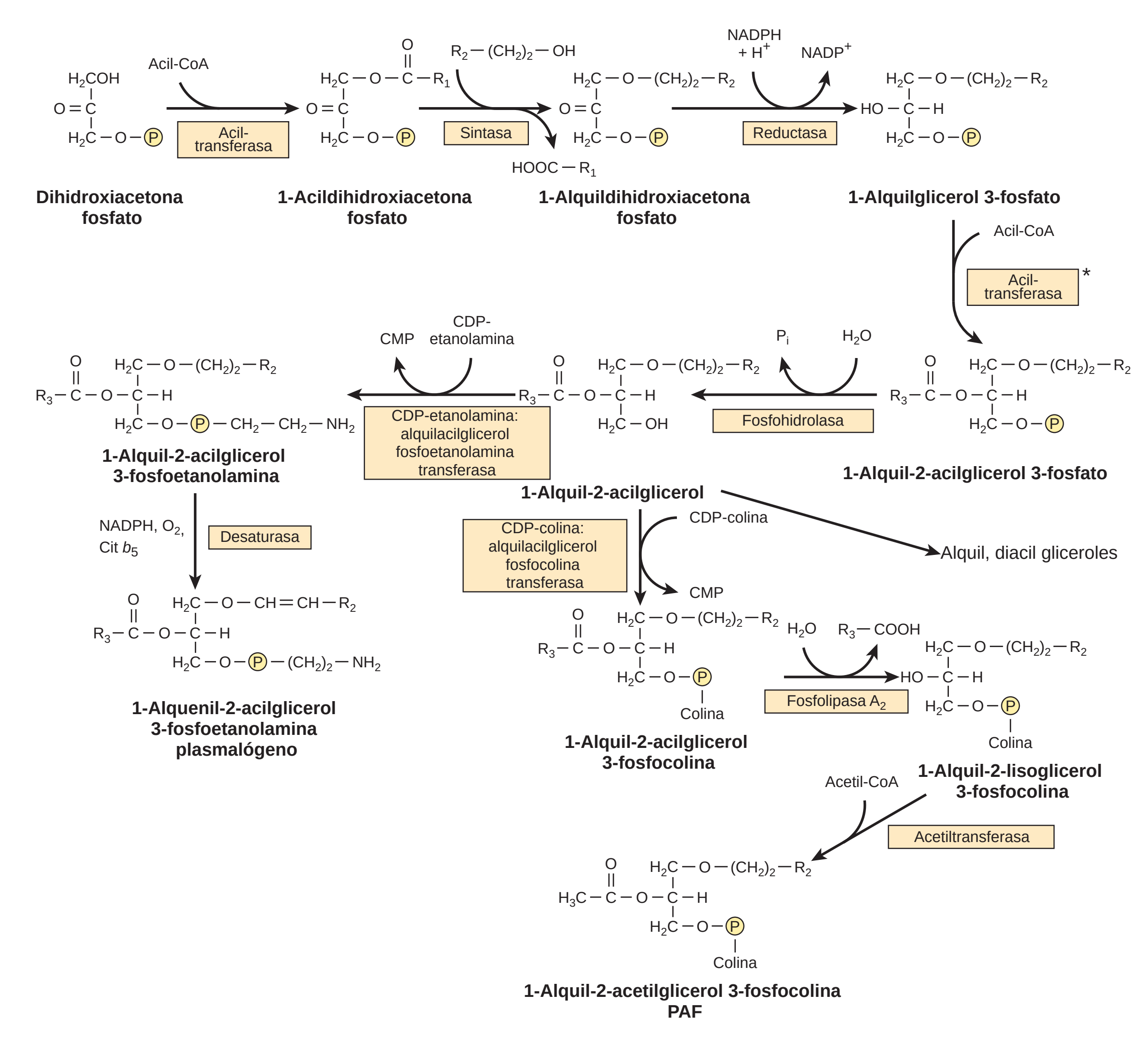


FIGURA 24-4 Biosíntesis de lípidos éter, incluso plasmalógenos y PAF. En la vía *de novo* para la síntesis de PAF, la acetil-CoA se incorpora en la etapa*, lo que evita los dos últimos pasos en la vía mostrada aquí.

lecitina hacia el colesterol para formar colesteril éster y lisolecitina, y se considera que es la causa de gran parte del colesteril éster en las lipoproteínas plasmáticas. Los ácidos grasos saturados de cadena larga se encuentran de modo predominante en la posición 1 de fosfolípidos, mientras que los ácidos poliinsaturados (p. ej., los precursores de PG) se incorporan con mayor frecuencia hacia la posición 2. La incorporación de ácidos grasos hacia lecitina ocurre por medio de síntesis completa del fosfolípido, mediante transacilación entre colesteril éster y lisolecitina, y por medio de acilación directa de la lisolecitina por la acil-CoA. Así, es posible un intercambio continuo de los ácidos grasos, sobre todo en lo que se refiere a introducir EFA en moléculas de fosfolípido.

TODOS LOS ESFINGOLÍPIDOS SE FORMAN A PARTIR DE CERAMIDA

La **ceramida** se sintetiza en el retículo endoplásmico a partir del aminoácido serina (fig. 24-7). La ceramida es una importante molécula emisora de señales (segundo mensajero) que regula vías, incluso la muerte celular programada **(apoptosis),** el ciclo celular, y la diferenciación y senescencia celulares.

Las **esfingomielinas** (fig. 15-11) son fosfolípidos y se forman cuando la ceramida reacciona con fosfatidilcolina para formar esfingomielina más diacilglicerol (fig. 24-8A). Esto sucede sobre todo en el aparato de Golgi y en menor grado en la membrana plasmática.

Los glucoesfingolípidos son una combinación de ceramida con uno o más residuos azúcar

Los glucoesfingolípidos más simples son la **(cerebrósidos)** más simples son la **galactosilceramida (GalCer)** y la **glucosilceramida (GlcCer).** La GalCer es un lípido importante de la mielina, mientras que la GlcCer es el principal glucoesfingolípido de los tejidos extraneurales y un precursor de casi todos los glucoesfingolípidos más complejos. La GalCer (fig. 24-8B) se forma en una reacción entre ceramida y UDPGal (formada por epimerización a partir de UDPGlc, fig. 21-6).

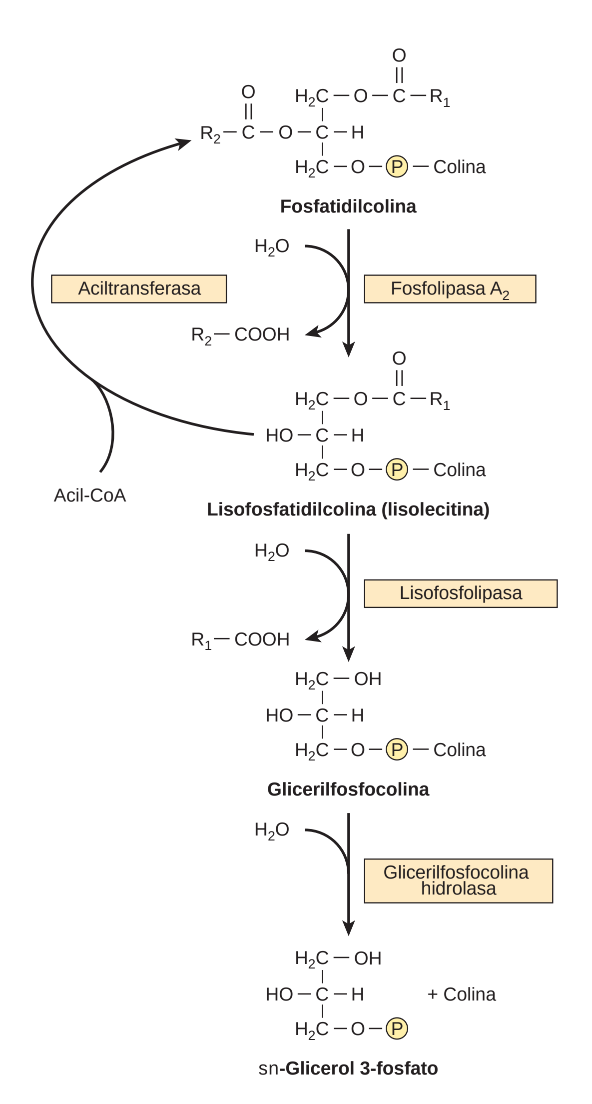


FIGURA 24-5 Metabolismo de la fosfatidilcolina (lecitina).

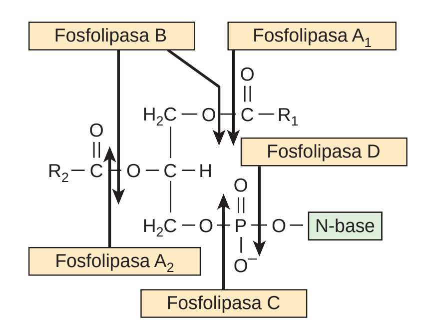


FIGURA 24-6 Sitios de actividad hidrolítica de fosfolipasas sobre un sustrato fosfolípido.

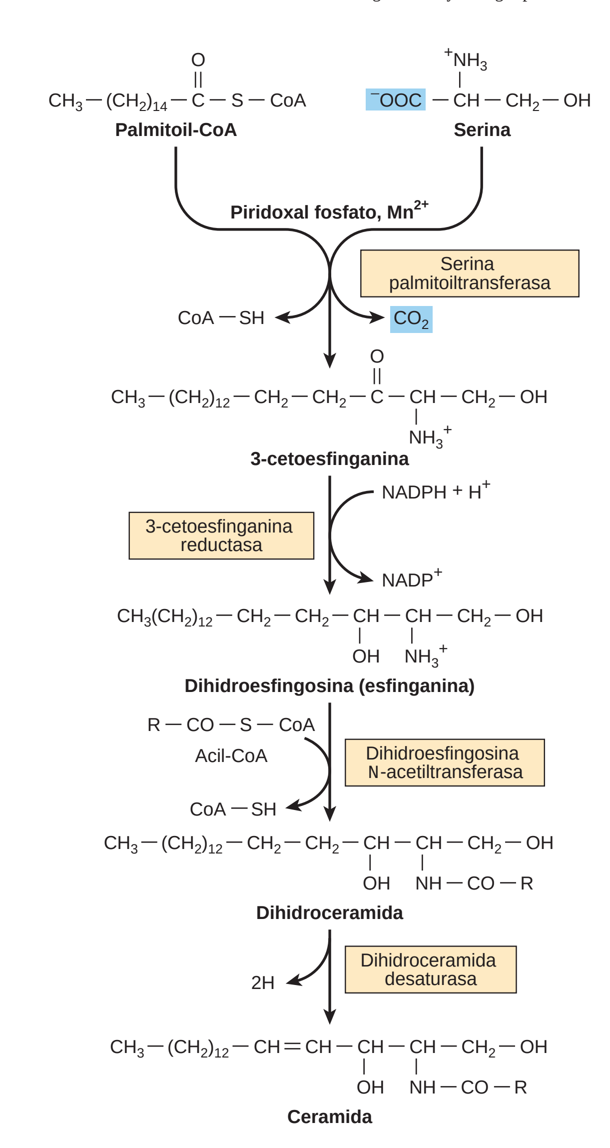


FIGURA 24-7 Biosíntesis de ceramida.

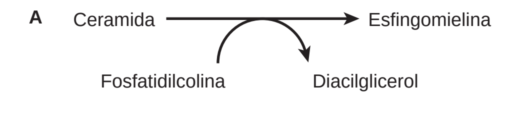
La **sulfogalactosilceramida** y otros sulfolípidos como los **sulfo(galacto)-glicerolípidos,** y los **esteroide sulfatos** se forman luego de reacciones adicionales que comprenden 3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS; "sulfato activo"). Los **gangliósidos** se sintetizan a partir de la ceramida mediante la adición por pasos de azúcares activados (p. ej., UDPGlc y UDPGal) y un **ácido siálico**, por lo general ácido *N*-acetilneuramínico (fig. 24-9). Puede formarse un gran número de gangliósidos de peso molecular creciente. Casi todas las enzimas que transfieren a azúcares desde azúcares nucleótido (glucosil transferasas) se encuentran en el aparato de Golgi.

Los **glucoesfingolípidos** son constituyentes de la hojuela externa de las membranas plasmáticas, y tienen importancia en la **adherencia celular** y el **reconocimiento celular.** Algunos son antígenos, por ejemplo, sustancias del grupo sanguíneo ABO. Ciertos gangliósidos funcionan como receptores para toxinas bacterianas (p. ej., para la **toxina del cólera,** que después activa a la adenilil ciclasa).

ASPECTOS CLÍNICOS

La deficiencia de surfactante pulmonar suscita síndrome de dificultad respiratoria

El **surfactante pulmonar** está compuesto en gran medida de lípido con algunas proteínas y carbohidratos, y evita que los alvéolos se



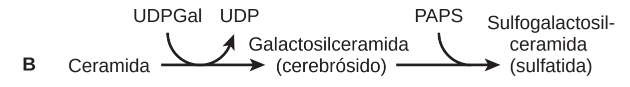


FIGURA 24-8 Biosíntesis de (**A**) esfingomielina, (**B**) galactosilceramida y su derivado sulfo. (PAPS, "sulfato activo", adenosina 3'-fosfato-5'-fosfosulfato.)

colapsen. El fosfolípido **dipalmitoil-fosfatidilcolina** disminuye la tensión de superficie en la interfaz aire-líquido y, de esta manera, reduce mucho el trabajo de la respiración, pero otros componentes lípidos y proteínicos surfactantes también tienen importancia en la función surfactante. La deficiencia de surfactante pulmonar en muchos recién nacidos pretérmino da lugar al **síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido.** La administración de surfactante natural o artificial genera beneficio terapéutico.

Los fosfolípidos y esfingolípidos participan en la esclerosis múltiple y en las lipidosis

Ciertas enfermedades se caracterizan por cantidades anormales de estos lípidos en los tejidos, a menudo en el sistema nervioso. Es factible clasificarlas en dos grupos: 1) enfermedades desmielinizantes verdaderas, y 2) esfingolipidosis.

En la **esclerosis múltiple**, que es una enfermedad desmielinizante, hay pérdida tanto de fosfolípidos (en particular plasmalógeno etanolamina) como de esfingolípidos de la sustancia blanca. De este modo, la composición de lípido de la sustancia blanca semeja la de la sustancia gris. El líquido cefalorraquídeo muestra cifras aumentadas de fosfolípido.

Las **esfingolipidosis (enfermedades por depósito de lípido)** son un grupo de enfermedades hereditarias que se producen por un defecto genético del catabolismo de lípidos que contienen esfingosina. Forman parte de un grupo de mayor tamaño de trastornos lisosómicos y muestran varias características constantes: 1) lípidos complejos que contienen ceramida se acumulan en las células, particularmente en las neuronas, y ocasionan neurodegeneración y acortamiento del lapso de vida. 2) El índice de **síntesis** del lípido

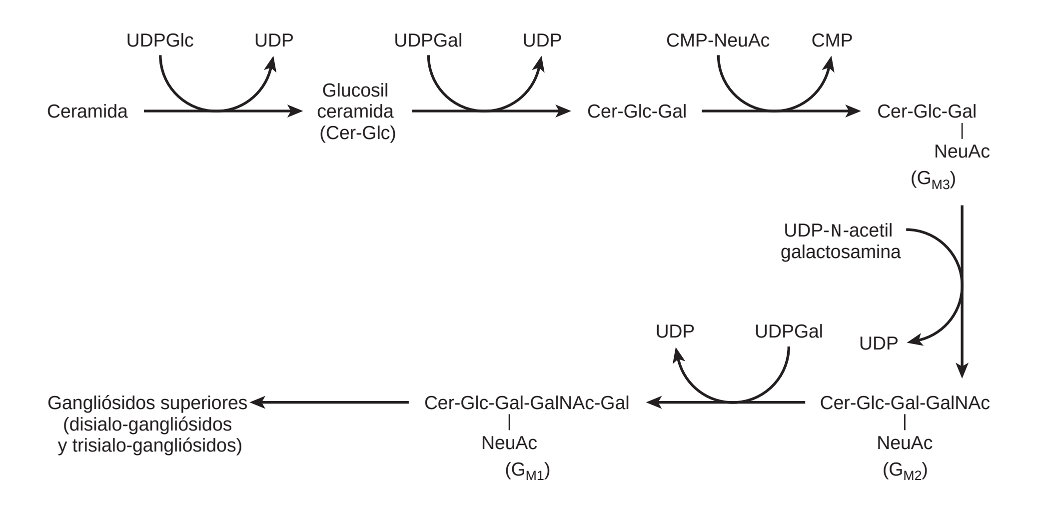


FIGURA 24-9 Biosíntesis de gangliósidos. (NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico.)

CUADRO 24-1 Ejemplos de esfingolipidosis

Enfermedad	Deficiencia de enzima	Lípido que se acumula	Síntomas clínicos
Enfermedad de Tay-Sachs	Hexosaminidasa A	Cer—Glc—Gal(NeuAc)÷GalNAc G_{M2} Gangliósido	Retraso mental, ceguera, debilidad muscular
Enfermedad de Fabry	α-Galactosidasa	Cer—Glc—Gal÷Gal Globotriaosilceramida	Exantema cutáneo, insuficiencia renal (los síntomas completos sólo se observan en varones; recesiva ligada a X)
Leucodistrofia metacromática	Arilsulfatasa A	Cer—Gal÷OSO_3 3-Sulfogalactosilceramida	Retraso mental y alteraciones psicológicas en adultos; desmielinización
Enfermedad de Krabbe	β-Galactosidasa	Cer÷Gal Galactosilceramida	Retraso mental; casi no hay mielina
Enfermedad de Gaucher	β-Glucosidasa	Cer÷Glc Glucosilceramida	Agrandamiento de hígado y bazo, erosión de huesos largos, retraso mental en lactantes
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomielinasa	Cer÷P—colina Esfingomielina	Hígado y bazo agrandados, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida
Enfermedad de Farber	Ceramidasa	Acil÷Esfingosina Ceramida	Ronquera, dermatitis, deformación del esqueleto, retraso mental; mortal en etapas tempranas de la vida

Abreviaturas: NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico; Cer, ceramida; Glc, glucosa; Gal, galactosa; ÷, sitio de reacción enzimática deficiente.

almacenado es normal. 3) El defecto enzimático yace en la **vía de degradación lisosómica** de esfingolípidos. 4) La magnitud del decremento de la actividad de la enzima afectada es similar en todos los tejidos. No se dispone de tratamiento eficaz para muchas de las enfermedades, si bien se ha logrado cierto éxito con la **terapia de restitución de enzima** y el **trasplante de médula ósea** en el tratamiento de las enfermedades de Gaucher y de Fabry. Otros métodos promisorios son la **terapia de privación de sustrato** para inhibir la síntesis de esfingolípidos, y la **terapia con chaperón químico**. También se encuentra en investigación la **terapia génica** para trastornos lisosómicos. El cuadro 24-1 muestra algunos ejemplos de las más importantes enfermedades por depósito de lípido.

La **deficiencia múltiple de sulfatasa** da por resultado acumulación de sulfogalactosilceramida, esteroide sulfatos y proteoglucanos, debido a una deficiencia combinada de arilsulfatasas A, B y C, y esteroide sulfatasa.

RESUMEN

- Los triacilgliceroles son los principales lípidos de almacenamiento de energía, mientras que los fosfogliceroles, la es ngomielina y los glucoes ngolípidos son an páticos y tienen funciones estructurales en membranas celulares, así como otras funciones especializadas.
- Los triacilgliceroles y algunos fosfogliceroles se sintetizan por medio de acilación progresiva de glicerol 3-fosfato. La vía se bifurca en el fosfatidato, y forma inositol fosfolípidos y cardiolipina por una parte, y triacilglicerol y fosfolípidos colina y etanolamina por la otra.
- Los plasmalógenos y el PAF son éter fosfolípidos formados a partir de la dihidroxiacetona fosfato.
- Los es ngolípidos se forman a partir de ceramida (*N*-aciles ngosina). La es ngomielina está presente en membranas de organelos involucrados en procesos secretorios (p. ej., el aparato de Golgi). Los glucoes ngolípidos más simples son una combinación de ceramida más un residuo azúcar (p. ej., GalCer en la mielina). Los gangliósidos son glucoes ngolípidos más complejos que contienen más residuos azúcar más ácido siálico. Están presentes en la capa externa de la membrana plasmática, donde contribuyen al glucocálix, y tienen importancia como antígenos y receptores celulares.
- Los fosfolípidos y es ngolípidos están implicados en varios procesos morbosos, entre ellos síndrome de di cultad respiratoria del recién nacido (falta de surfactante pulmonar), esclerosis múltiple (desmielinización) y es ngolipidosis (incapacidad para desintegrar es ngolípidos en lisosomas debido a defectos hereditarios de enzimas hidrolasa).

REFERENCIAS

McPhail LC: Glycerolipid in signal transduction. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 4th ed. Vance DE, Vance JE (Eds.). Elsevier, 2002:315–340.

Merrill AH, Sandhoff K: Sphingolipids: metabolism and cell signaling. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 4th ed. Vance DE, Vance JE (Eds.). Elsevier, 2002:373–408.

Meyer KC, Zimmerman JJ: Inflammation and surfactant. Paediatr Respir Rev 2002;3:308.

Prescott SM et al: Platelet-activating factor and related lipid mediators. Annu Rev Biochem 2000;69:419.

Ruvolo PP: Intracellular signal transduction pathways activated by ceramide and its metabolites. Pharmacol Res 2003;47:383.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Vance DE: Phospholipid biosynthesis in eukaryotes. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 4th ed. Vance DE, Vance JE (Eds.). Elsevier, 2002:205–232.

van Echten G, Sandhoff K: Ganglioside metabolism. Enzymology, topology, and regulation. J Biol Chem 1993;268:5341.

CAPÍTULO

25

Transporte y almacenamiento de lípidos

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La grasa que se absorbe a partir de la dieta y los lípidos sintetizados por el hígado y el tejido adiposo deben transportarse entre los diversos tejidos y órganos para utilización y almacenamiento. Dado que los lípidos son insolubles en agua, el problema de cómo transportarlos en el plasma sanguíneo acuoso se resuelve al asociar lípidos no polares (triacilglicerol y colesteril ésteres) con lípidos (fosfolípidos y colesterol) y proteínas anfipáticos para hacer lipoproteínas miscibles en agua.

Los omnívoros (como el ser humano) que están alimentándose ingieren calorías en exceso en la fase anabólica del ciclo de alimentación, lo cual va seguido por un periodo de balance calórico negativo cuando el organismo recurre a sus reservas de carbohidratos y grasas. Las lipoproteínas median este ciclo al transportar lípidos desde los intestinos como quilomicrones —y desde el hígado como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)— hacia casi todos los tejidos para oxidación y hacia el tejido adiposo para almacenamiento. El lípido se moviliza desde el tejido adiposo como ácidos grasos libres (AGL) unidos a la albúmina sérica. Las anormalidades del metabolismo de lipoproteínas dan por resultado diversas **hipolipoproteinemias** o **hiperlipoproteinemias** (cuadro 26-1). La más frecuente de éstas se observa en la **diabetes mellitus,** en la cual la deficiencia de insulina origina movilización excesiva de AGL y subutilización de quilomicrones y VLDL, lo que conduce a **hipertriacilglicerolemia.** Casi todos los otros estados patológicos que afectan el transporte de lípidos se deben principalmente a defectos hereditarios, algunos de los cuales causan **hipercolesterolemia** y **aterosclerosis** prematura. La **obesidad** —en especial la abdominal— es un factor de riesgo para mortalidad aumentada, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemia, hiperglucemia y diversas disfunciones endocrinas.

LOS LÍPIDOS SE TRANSPORTAN EN EL PLASMA COMO LIPOPROTEÍNAS

En las lipoproteínas hay cuatro clases principales de lípidos

Los lípidos plasmáticos constan de **triacilgliceroles** (16%), **fosfolípidos** (30%), **colesterol** (14%) y **colesteril ésteres** (36%) y una fracción de tamaño mucho menor de ácidos grasos de cadena larga no esterificados (4%). Esta última fracción, los **AGL,** es la más activa de los lípidos plasmáticos desde el punto de vista metabólico.

Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas plasmáticas

Dado que la grasa es menos densa que el agua, la densidad de una lipoproteína disminuye conforme se incrementa la proporción entre lípido y proteína (cuadro 25-1). Se han identificado cuatro grupos principales de lipoproteínas que tienen importancia fisiológica y en el diagnóstico clínico: 1) **quilomicrones,** derivados de la absorción intestinal de triacilglicerol y otros lípidos; 2) **lipoproteínas de muy baja densidad** (VLDL, o pre-β-lipoproteínas), derivadas del hígado para la exportación de triacilglicerol; 3) **lipoproteínas de baja densidad** (LDL, o β-lipoproteínas), que representan una etapa final en el catabolismo de VLDL, y 4) **lipoproteínas de alta densidad** (HDL, o α-lipoproteínas), comprendidas en el transporte de colesterol y en el metabolismo de LDL y de quilomicrones. El triacilglicerol es el lípido predominante en quilomicrones y VLDL, mientras que el colesterol y los fosfolípidos son los lípidos predominantes en LDL y HDL, respectivamente (cuadro 25-1). Las lipoproteínas pueden separarse de acuerdo con sus propiedades electroforéticas en **α-, β-** y **pre-β-lipoproteínas.**

Las lipoproteínas constan de un centro no polar y una capa de superficie única de lípidos anfipáticos

El **centro de lípidos no polar** consta sobre todo de **triacilglicerol** y **colesteril éster,** y está rodeado por una **capa de superficie única** de moléculas de **fosfolípido** y **colesterol anfipáticas** (fig. 25-1), las cuales se encuentran orientadas de modo que sus grupos polares miran hacia afuera, hacia el medio acuoso, como en la membrana celular (cap. 15). La porción proteína de una lipoproteína se conoce como una **apolipoproteína** o **apoproteína,** y constituye cerca de 70% de algunas HDL, y apenas 1% de los quilomicrones. Algunas apolipoproteínas son integrales y no se pueden eliminar, mientras que otras están libres para transferir hacia otras lipoproteínas.

La distribución de las apolipoproteínas caracteriza a la lipoproteína

En cada lipoproteína hay una o más apolipoproteínas (proteínas o polipéptidos). Las principales apolipoproteínas de HDL (α-lipoproteína) se designan A (cuadro 25-1). La principal apolipoproteína de la LDL (β-lipoproteína) es la apolipoproteína B (B-100), que también se encuentra en VLDL. Los quilomicrones contienen una forma truncada de apo B (B-48) que se sintetiza en el intestino, mientras

CUADRO 25-1 Composición de las lipoproteínas en plasma de humanos

Lipoproteína	Fuente	Diámetro (nm)	Densidad (g/ml)	Composición Proteínas (%)	Lípidos (%)	Principales componentes lípidos	Apolipoproteínas
Quilomicrones	Intestino	90–1000	< 0.95	1–2	98–99	Triacilglicerol	A-I, A-II, A-IV,[1] B-48, C-I, C-II, C-III, E
Residuos de quilomicrones	Quilomicrones	45–150	< 1.006	6–8	92–94	Triacilglicerol, fosfolípidos, colesterol	B-48, E
VLDL	Hígado (intestino)	30–90	0.95–1.006	7–10	90–93	Triacilglicerol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25–35	1.006–1.019	11	89	Triacilglicerol, colesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20–25	1.019–1.063	21	79	Colesterol	B-100
HDL	Hígado, intestino, VLDL, quilomicrones					Fosfolípidos, colesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D,[2] E
HDL_1		20–25	1.019–1.063	32	68		
HDL_2		10–20	1.063–1.125	33	67		
HDL_3		5–10	1.125–1.210	57	43		
Preβ-HDL[3]		< 5	> 1.210				A-I
Albúmina/AGL	Tejido adiposo		> 1.281	99	1	AGL	

Abreviaturas: HDL, lipoproteínas de alta densidad; IDL, lipoproteínas de densidad intermedia; LDL, lipoproteínas de baja densidad; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad.
[1] Secretadas con quilomicrones, pero se tans eren a HDL.
[2] Asociadas con subfracciones HDL_2 y HDL_3.
[3] Parte de una fracción menor conocida como lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL).

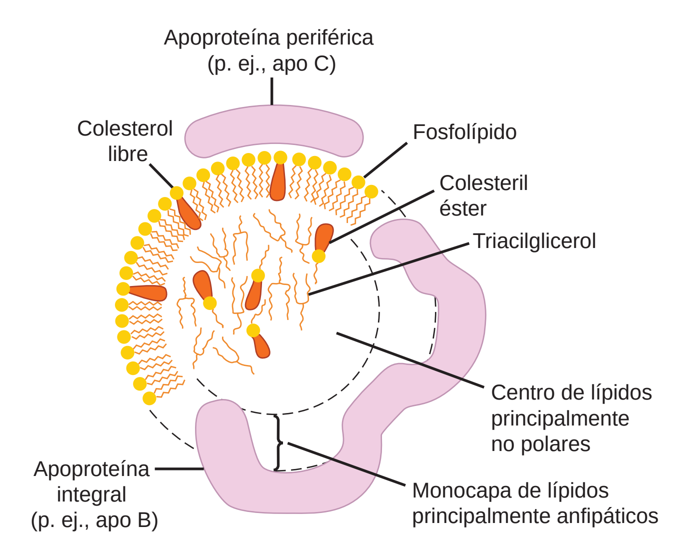


FIGURA 25-1 Estructura generalizada de una lipoproteína plasmática. Cabe hacer notar las similitudes con la estructura de la membrana plasmática. En la capa superficial hay pequeñas cantidades de colesteril éster y triacilglicerol, y un poco de colesterol libre en el centro.

que la B-100 se sintetiza en el hígado. La apo B-100 es una de las cadenas polipeptídicas únicas más largas conocidas; tiene 4 536 aminoácidos, y una masa molecular de 550 000 Da. La apo B-48 (48% de B-100) se forma a partir del mismo ácido ribonucleico mensajero (mRNA) que la apo B-100 después de la introducción de una señal de detención por una enzima que edita el RNA. Las apo C-I, C-II y C-III son polipéptidos de menor tamaño (masa molecular de 7 000 a 9 000 Da) libremente transferibles entre varias lipoproteínas distintas. La apo E se encuentra en VLDL, HDL, quilomicrones y remanentes de quilomicrón; explica 5 a 10% de las apolipoproteínas VLDL totales en sujetos normales.

Las apolipoproteínas llevan a cabo varias funciones: 1) pueden formar parte de la estructura de la lipoproteína, por ejemplo, apo B; 2) son cofactores de enzimas, por ejemplo, C-II para la lipoproteína lipasa, A-I para la lecitina:colesterol aciltransferasa, o inhibidores de enzima, por ejemplo, apo A-II y apo C-III para la lipoproteína lipasa, apo C-I para la proteína de transferencia de colesteril éster, y 3) actúan como ligandos para la interacción con receptores de lipoproteína en los tejidos, por ejemplo, apo B-100 y apo E para el receptor de LDL, apo E para la proteína relacionada con receptor de LDL (LRP), que se ha identificado como el receptor de remanente, y apo A-I para el receptor de HDL. Sin embargo, las funciones de la apo A-IV y de la apo D aún no se definen con claridad, aunque se cree que la apo D es un factor importante en trastornos neurodegenerativos en seres humanos.

LOS AGL SE METABOLIZAN CON RAPIDEZ

Los **AGL** (ácidos grasos no esterificados) surgen en el plasma a partir de la desintegración de triacilglicerol en el tejido adiposo, o como resultado de la acción de la lipoproteína lipasa sobre los triacilgliceroles plasmáticos. Se encuentran **en combinación con la albúmina,** un solubilizante muy eficaz, en concentraciones que varían entre 0.1 y 2.0 μeq/ml de plasma. Las cifras son bajas cuando el individuo está completamente alimentado y aumentan hasta 0.7 a 0.8 μeq/ml en el estado de inanición. En la **diabetes mellitus** no controlada, la concentración puede incrementarse hasta 2 μeq/ml.

Los AGL se eliminan de la sangre con rapidez extrema y se oxidan (lo que satisface 25 a 50% de los requerimientos de energía en la inanición) o se esterifican para formar triacilglicerol en los tejidos. En la inanición, los lípidos esterificados de la circulación o en los tejidos también se oxidan, de modo particular en células del corazón y el músculo estriado, donde se encuentran considerables reservas de lípido.

La captación de AGL por los tejidos muestra vínculo directo con las cifras plasmáticas de AGL que, a su vez, están determinadas por el índice de lipólisis en el tejido adiposo. Luego de disociación del complejo de ácido graso-albúmina en la membrana plasmática, los ácidos grasos se unen a una **proteína de transporte de ácido graso de membrana** que actúa como un cotransportador de membrana con Na^+. En el momento de entrar al citosol, los AGL son unidos por **proteínas de unión a ácido graso** intracelulares. Se cree que la función de estas proteínas en el transporte intracelular es similar a la de la albúmina sérica en el transporte extracelular de ácidos grasos de cadena larga.

EL TRIACILGLICEROL SE TRANSPORTA DESDE LOS INTESTINOS EN QUILOMICRONES Y DESDE EL HÍGADO EN LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD

Por definición, los **quilomicrones** se encuentran en el **quilo** formado sólo por el sistema linfático que **drena el intestino.** Se encargan del transporte de todos los lípidos de la dieta hacia la circulación. También se encuentran pequeñas cantidades de VLDL en el quilo; empero, casi todas las **VLDL en el plasma** son de origen hepático. **Son los vehículos de transporte de triacilglicerol desde el hígado hacia los tejidos extrahepáticos.**

Hay notorias similitudes en los mecanismos de formación de quilomicrones por las células intestinales y de VLDL por las células del parénquima hepático (fig. 25-2), quizá porque —aparte de la glándula mamaria— el intestino y el hígado son los únicos tejidos a partir de los cuales se secreta lípido particulado. Los quilomicrones y las VLDL recién secretados o "nacientes" sólo contienen una pequeña cantidad de apolipoproteínas C y E, y el complemento completo se adquiere a partir de HDL en la circulación (figs. 25-3 y 25-4). La apo B es esencial para la formación de quilomicrón y de VLDL. En la **abetalipoproteinemia** (una enfermedad rara), no se forman lipoproteínas que contienen apo B, y se acumulan gotitas de lípido en el intestino y el hígado.

A continuación se presenta una exposición más detallada de los factores que controlan la secreción hepática de VLDL.

LOS QUILOMICRONES Y LAS LIPOPROTEÍNAS DE MUY BAJA DENSIDAD SE CATABOLIZAN CON RAPIDEZ

La depuración de quilomicrones de la sangre es rápida; el tiempo medio de desaparición es de menos de 1 h en seres humanos. Las partículas de mayor tamaño se catabolizan con mayor rapidez que las de menor tamaño. Los ácidos grasos que se originan a partir del tria-

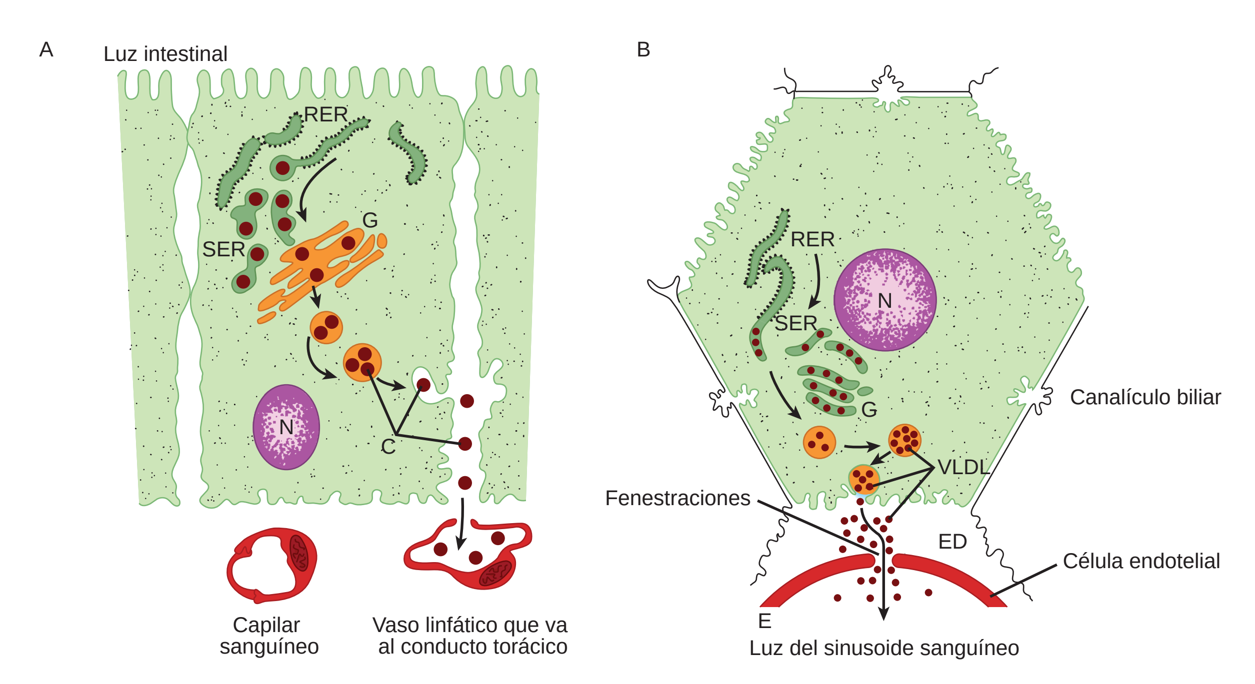


FIGURA 25-2 La formación y excreción de **(A)** quilomicrones por una célula intestinal y **(B)** VLDL por una célula hepática. (RER, retículo endoplásmico rugoso; REL, retículo endoplásmico liso; G, aparato de Golgi; N, núcleo; C, quilomicrones; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad; E, endotelio; ED, espacio de Disse, que contiene plasma sanguíneo.) La apolipoproteína B, sintetizada en el RER, se incorpora en lipoproteínas en el REL, el principal sitio de síntesis de triacilglicerol. Luego de la adición de residuos carbohidrato en el G, se liberan de las células mediante pinocitosis inversa. Los quilomicrones pasan hacia el sistema linfático. La VLDL se secreta hacia el ED y después hacia los sinusoides hepáticos a través de fenestraciones en el revestimiento endotelial.

cilglicerol de quilomicrón van de modo predominante al tejido adiposo, corazón y músculo (80%), mientras que alrededor de 20% va al hígado. Con todo, **el hígado no metaboliza quilomicrones o VLDL naturales de modo significativo;** así, los ácidos grasos en el hígado deben ser secundarios a su metabolismo en tejidos extrahepáticos.

Los triacilgliceroles de quilomicrones y VLDL se hidrolizan por medio de la lipoproteína lipasa

La **lipoproteína lipasa** está localizada sobre las paredes de los capilares sanguíneos y anclada al endotelio mediante cadenas de proteoglucano con carga negativa de heparán sulfato. Se ha encontrado en el corazón, el tejido adiposo, el bazo, pulmones, médula renal, aorta, diafragma y glándula mamaria en lactación, aunque no es activa en el hígado de adultos. Por lo general no se encuentra en sangre; aun así, después de la inyección de **heparina** se libera lipoproteína lipasa desde sus sitios de unión a heparán sulfato hacia la circulación. La **lipasa hepática** está unida a la superficie sinusoidal de células hepáticas, y la heparina también la libera. Como quiera que sea, esta enzima no reacciona con facilidad con quilomicrones o VLDL, sino que participa en el metabolismo de remanente de quilomicrón y de HDL.

Tanto los **fosfolípidos** como la **apo C-II** se requieren como cofactores para la actividad de la lipoproteína lipasa, mientras que la **apo A-II** y la **apo C-III** actúan como inhibidores. La hidrólisis tiene lugar mientras las lipoproteínas están fijas a la enzima sobre el endotelio. El triacilglicerol se hidroliza de manera progresiva pasando por un diacilglicerol hasta un monoacilglicerol y, por último, hacia AGL más glicerol. Algunos de los AGL liberados regresan a la circulación, fijos a albúmina, pero la mayor parte se transporta hacia el tejido (figs. 25-3 y 25-4). La lipoproteína lipasa cardiaca tiene una K_m baja para triacilglicerol, alrededor de una décima parte de aquella para la enzima en el tejido adiposo. Esto permite que el suministro de ácidos grasos provenientes de triacilglicerol se **redirija desde el tejido adiposo hacia el corazón en el estado de inanición** cuando hay decremento del triacilglicerol plasmático. Ocurre una redirección similar hacia la glándula mamaria durante la lactación, lo que permite la captación de ácido graso de triacilglicerol de lipoproteína para la síntesis de **grasa de la leche.** El **receptor de VLDL** tiene importancia en el suministro de ácidos grasos desde triacilglicerol de VLDL hacia adipocitos al unir VLDL y llevarla en contacto estrecho con la lipoproteína lipasa. En el tejido adiposo, la **insulina** aumenta la síntesis de lipoproteína lipasa en los adipocitos, y su translocación hacia la superficie luminal del endotelio capilar.

La acción de la lipoproteína lipasa forma lipoproteínas remanentes

La reacción con lipoproteína lipasa causa la pérdida de 70 a 90% del triacilglicerol de quilomicrones, y la pérdida de apo C (que regresa a HDL), no así de apo E, que se retiene. El **remanente de quilomicrón** resultante tiene alrededor de la mitad del diámetro del quilomicrón original, y está relativamente enriquecido en colesterol y colesteril ésteres debido a la pérdida de triacilglicerol (fig. 25-3). Ocurren cambios similares a VLDL, con la formación de **remanentes de VLDL** (también denominados **lipoproteínas de densidad intermedia [IDL]**) (fig. 25-4).

El hígado se encarga de la captación de lipoproteínas remanentes

El hígado capta remanentes de quilomicrón por medio de endocitosis mediada por receptor, y los colesteril ésteres y triacilgliceroles se

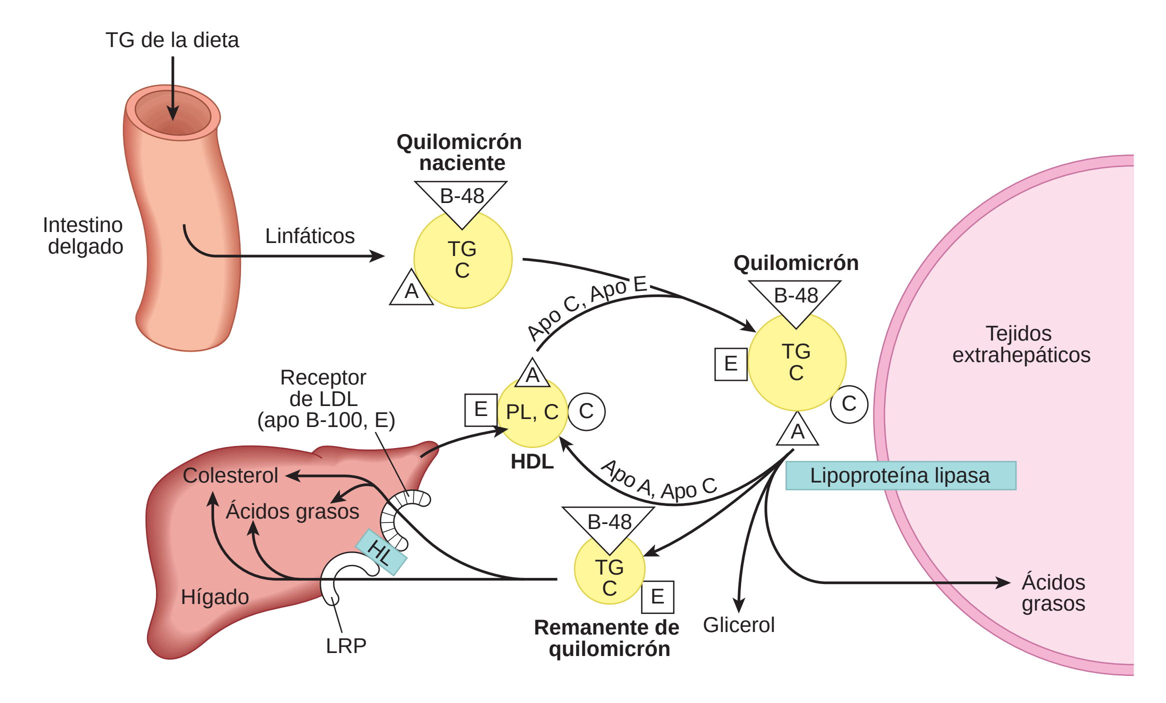


FIGURA 25-3 Destino metabólico de quilomicrones. (A, apolipoproteína A; B-48, apolipoproteína B-48; Ⓒ, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; C, colesterol y colesteril éster; PL, fosfolípido; HL, lipasa hepática; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL.) Sólo se muestran los lípidos predominantes.

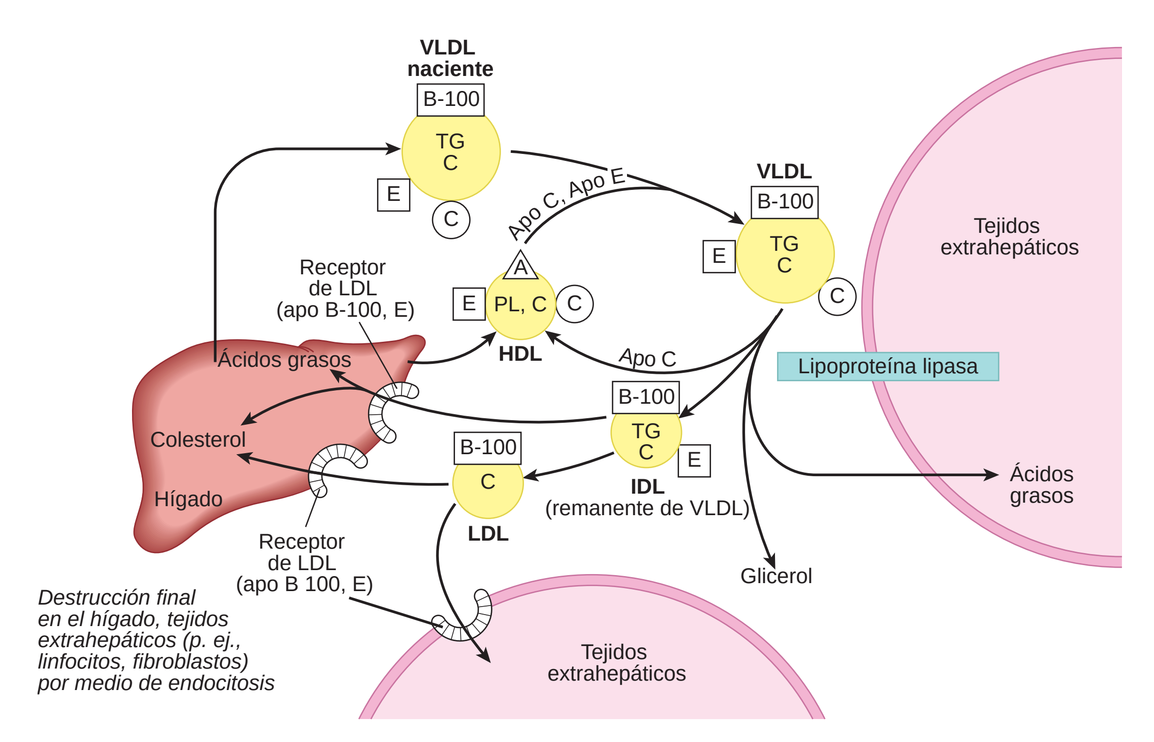


FIGURA 25-4 Destino metabólico de VLDL y producción de LDL. (A, apolipoproteína A; B-100, apolipoproteína B-100; ©, apolipoproteína C; E, apolipoproteína E; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triacilglicerol; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; C, colesterol y colesteril éster; PL, fosfolípido.) Sólo se muestran los lípidos predominantes. Es posible que algo de IDL también se metabolice por medio de la LRP.

hidrolizan y metabolizan. La captación está mediada por **apo E** (fig. 25-3), mediante dos receptores dependientes de apo E, el **receptor de LDL (apo B-100, E)** y la **LRP.** La lipasa hepática tiene una función doble: 1) actúa como un ligando para facilitar la captación de remanentes, y 2) hidroliza el triacilglicerol y fosfolípido remanente.

Luego de metabolismo hacia IDL, la VLDL puede ser captada de modo directo por el hígado por medio del receptor de LDL (apo B-100, E), o convertirse en LDL. En cada una de estas partículas de lipoproteína únicamente hay una molécula de apo B-100 y ésta se conserva en el transcurso de las transformaciones. De esta manera, cada partícula de LDL se deriva de una partícula de VLDL precursora única (fig. 25-4). En seres humanos, una proporción relativamente grande de IDL forma LDL, lo que explica las concentraciones incrementadas del LDL en seres humanos en comparación con muchos otros mamíferos.

LA LDL SE METABOLIZA MEDIANTE EL RECEPTOR DE LDL

El hígado y muchos otros tejidos extrahepáticos expresan **el receptor de LDL (apo B-100, E)**, recibe ese nombre porque es específico para apo B-100, no así para B-48, que carece del dominio terminal carboxilo de B-100 que contiene el ligando receptor de LDL, y capta también lipoproteínas ricas en apo E. Un 30% de la LDL se degrada en tejidos extrahepáticos y 70% en el hígado. Hay una correlación positiva entre la incidencia de **aterosclerosis** y las cifras plasmáticas de colesterol de LDL. El receptor de LDL (Apo B-100, E) es defectuoso en la **hipercolesterolemia familiar,** enfermedad genética que aumenta las concentraciones de colesterol de LDL y suscita aterosclerosis prematura. En el capítulo 26 se presentan más detalles de la regulación del receptor de LDL.

LA HDL PARTICIPA EN EL METABOLISMO TANTO DE TRIACILGLICEROL COMO DE COLESTEROL DE LIPOPROTEÍNA

La **HDL** se sintetiza tanto en hígado como en intestino y se secreta a partir de los mismos (fig. 25-5). De cualquier modo, la apo C y la apo E se sintetizan en el hígado y se transfieren desde la HDL hepática hacia la HDL intestinal cuando esta última entra en el plasma. Una función importante de la HDL es actuar como un depósito para la apo C y apo E requeridas en el metabolismo de quilomicrones y VLDL. La HDL naciente consta de bicapas de fosfolípido discoidales que contienen apo A y colesterol libre. Estas lipoproteínas son similares a las partículas que se encuentran en el plasma de enfermos que tienen una deficiencia de la enzima plasmática **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** y en el de aquellos con **ictericia obstructiva.** La LCAT —y el activador de LCAT apo A-I— se unen a las partículas discoidales, y el fosfolípido de superficie y el colesterol libre se convierten en colesteril ésteres y lisolecitina (cap. 24). Los colesteril ésteres no polares se mueven hacia el interior hidrofóbico de la bicapa, mientras que la lisolecitina se transfiere hacia la albúmina plasmática. De este modo, se genera un centro no polar, lo que forma una HDL seudomicelar, esférica, cubierta por una película superficial de lípidos y apolipoproteínas polares. Esto ayuda a la eliminación de colesterol no esterificado excesivo desde

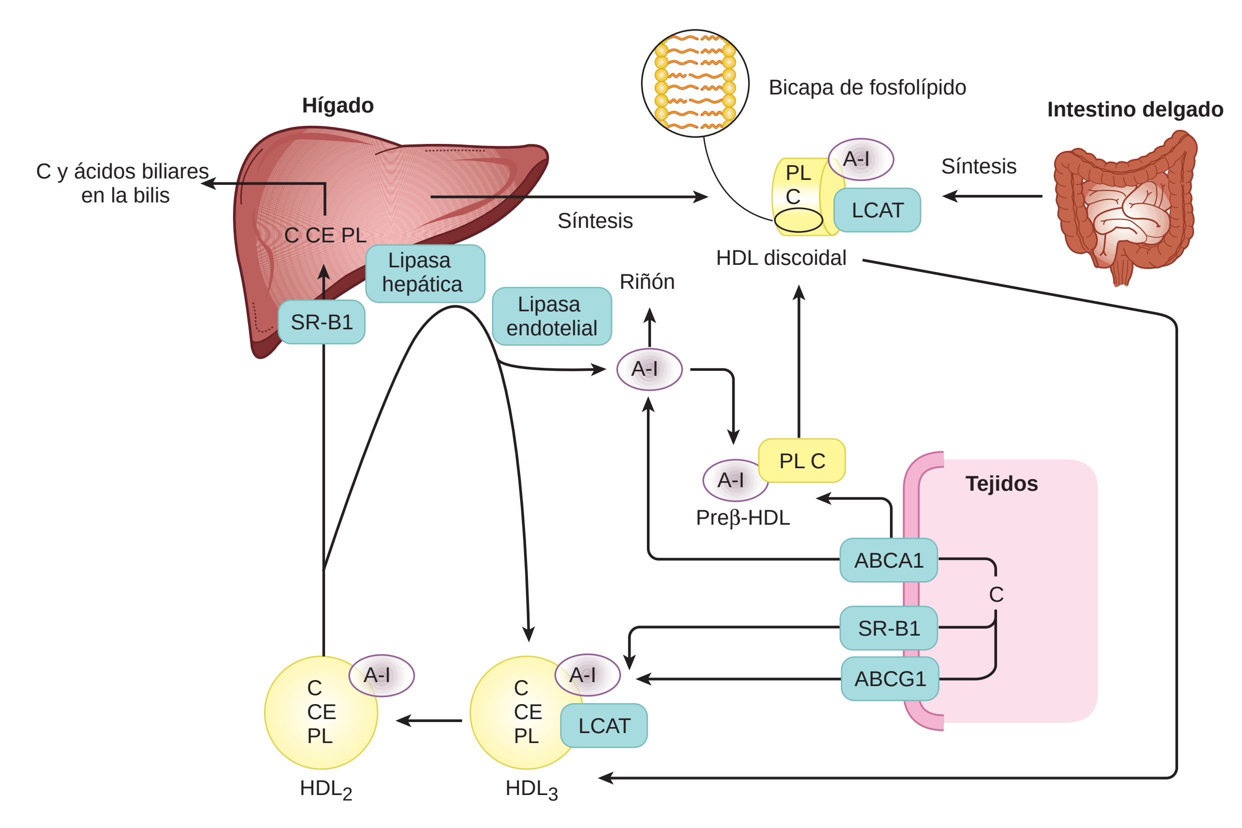


FIGURA 25-5 Metabolismo de HDL en el transporte inverso de colesterol (LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; C, colesterol; CE, colesteril éster; PL, fosfolípido; A-I, apolipoproteína A-I; SR-B1, receptor recolector B1; ABCA1, transportadores de casete A1 de unión a ATP; ABCG1, transportadores de casete G1 de unión a ATP). Preβ-HDL, HDL_2, HDL_3 (cuadro 25-1). Los constituyentes de superficie excedentes por la acción de la lipoproteína lipasa sobre los quilomicrones y VLDL son otra fuente de preβ-HDL. La actividad de lipasa hepática es incrementada por andrógenos y disminuida por estrógenos, lo cual quizá explique las cifras plasmáticas más altas de HDL_2 en mujeres.

lipoproteínas y tejidos (véase más adelante). El **receptor recolector B1 clase B (SR-B1)** ha sido identificado como un **receptor de HDL con una función doble en el metabolismo de HDL.** En el hígado y en tejidos esteroidogénicos, se une a la HDL por medio de la apo A-I, y el colesteril éster se lleva de manera selectiva hacia las células, aunque la partícula en sí, incluso apo A-I, no es captada. Por otra parte, en los tejidos, el SR-B1 media la aceptación del colesterol que sale de las células por la HDL, que después lo transporta hacia el hígado para excreción mediante la bilis (sea como colesterol o luego de conversión en ácidos biliares) en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (fig. 25-5). La HDL_3, generada a partir de HDL discoidal por medio de la acción de LCAT, acepta colesterol proveniente de los tejidos mediante el **SR-B1,** y a continuación la LCAT esterifica el colesterol, lo que incrementa el tamaño de las partículas para formar la HDL_2 menos densa. Después se vuelve a formar HDL_3, sea después de suministro selectivo de colesteril éster al hígado por medio del SR-B1 o mediante hidrólisis de fosfolípido y triacilglicerol de HDL_2 por medio de la lipasa hepática y la lipasa endotelial. Este intercambio de HDL_2 y HDL_3 se llama el **ciclo de HDL** (fig. 25-5). La apo A-I libre se libera mediante estos procesos y forma **preβ-HDL** luego de relacionarse con una cantidad mínima de fosfolípido y colesterol. La apo A-I excesiva se destruye en los riñones. Un segundo mecanismo importante para el transporte inverso de colesterol comprende los **transportadores de casete A1 de unión a ATP (ABCA1)** y **G1 (ABCG1)**, los cuales son miembros de una familia de proteínas transportadoras que unen la hidrólisis de ATP a la unión de un sustrato, lo que permite que se transporten a través de la membrana. El ABCG1 media el transporte de colesterol desde células hacia HDL, mientras que el ABCA1 promueve de preferencia el flujo de salida de partículas poco lipidadas, como preβ-HDL o apo A-1, que después se convierten en HDL_3 por medio de la HDL discoidal (fig. 25-5). La preβ-HDL es la forma más potente de HDL que induce el flujo de salida de colesterol desde los tejidos.

Las cifras de HDL varían de modo recíproco con las concentraciones plasmáticas de triacilglicerol, y de manera directa con la actividad de la lipoproteína lipasa. Esto puede deberse a constituyentes de superficie excesivos, p. ej., fosfolípido y apo A-I, que se liberan durante la hidrólisis de quilomicrones y VLDL, y contribuyen a la formación de preβ-HDL y HDL discoidal. Las cifras de HDL_2 **muestran relación inversa con la incidencia de aterosclerosis,** quizá porque reflejan la eficiencia del transporte de colesterol inverso. El HDL_c (HDL_1) se encuentra en la sangre de animales con hipercolesterolemia inducida por la dieta. Tiene alto contenido de colesterol, y su única apolipoproteína es la apo E. Parece ser que todas las lipoproteínas plasmáticas son componentes interrelacionados de uno o más ciclos metabólicos que juntos se encargan del proceso complejo del transporte de lípidos en el plasma.

EL HÍGADO DESEMPEÑA UNA FUNCIÓN FUNDAMENTAL EN EL TRANSPORTE Y METABOLISMO DE LÍPIDOS

El hígado efectúa las funciones importantes que siguen en el metabolismo de lípidos:

1. Facilita la digestión y absorción de lípidos mediante la producción de **bilis**, que contiene colesterol y sales biliares sintetizados dentro del hígado *de novo* o luego de captación de colesterol de lipoproteína (cap. 26).
2. **Sintetiza y oxida ácidos grasos** de modo activo (caps. 22 y 23), y sintetiza triacilgliceroles y fosfolípidos (cap. 24).
3. **Convierte ácidos grasos en cuerpos cetónicos (cetogénesis)** (cap. 22).
4. Tiene una participación esencial en **la síntesis y el metabolismo de proteínas plasmáticas** (este capítulo).

La secreción de VLDL hepática se relaciona con el estado hormonal y en cuanto a dieta

Los eventos celulares comprendidos en la formación y secreción de VLDL ya se describieron (fig. 25-2) y se muestran en la figura 25-6. La síntesis hepática de triacilglicerol proporciona el estímulo inmediato para la formación y secreción de VLDL. Los ácidos grasos usados se derivan de dos posibles fuentes: 1) síntesis en el hígado a partir de **acetil-CoA** derivada principalmente de carbohidratos (tal vez no tan importante en seres humanos), y 2) captación de **AGL** desde la circulación. La primera fuente predomina en el estado bien alimentado, cuando la síntesis de ácidos grasos es alta y la concentración de AGL circulantes es baja. Dado que en estas condiciones el triacilglicerol por lo normal no se acumula en el hígado, debe inferirse que se transporta desde dicho órgano en VLDL con tanta rapidez como se sintetiza, y que la síntesis de apo B-100 no es limitante. Los AGL que provienen de la circulación son la principal fuente en el transcurso de inanición, el consumo de dietas con alto contenido de grasa, o en la diabetes mellitus, cuando la lipogénesis hepática está inhibida. Los factores que aumentan tanto la síntesis de triacilglicerol como la secreción de VLDL por el hígado son: 1) el estado posprandial más que el de inanición; 2) el consumo de dietas con alto contenido de carbohidratos (en particular si contienen sacarosa o fructosa), lo que lleva a índices altos de lipogénesis y esterificación de ácidos grasos; 3) cifras altas de AGL circulantes; 4) ingestión de etanol, y 5) la presencia de concentraciones altas de insulina, y bajas de glucagon, lo que incrementa la síntesis y la esterificación de ácidos grasos, e inhibe su oxidación (fig. 25-6).

ASPECTOS CLÍNICOS

El desequilibrio del índice de la formación y exportación de triacilglicerol produce hígado graso

Por diversas razones, los lípidos —principalmente como triacilglicerol— pueden acumularse en el hígado (fig. 25-6). La acumulación extensa se considera un estado patológico. La **enfermedad de hígado graso no alcohólico** es el trastorno hepático más frecuente en todo el mundo. Cuando la acumulación de lípido en el hígado se hace crónica, pueden aparecer cambios inflamatorios y fibróticos que llevan a **esteatohepatitis no alcohólica**, la cual puede progresar hacia enfermedades del hígado, entre ellas **cirrosis, hepatocarcinoma** e **insuficiencia hepática**.

Los hígados grasos caen dentro de dos categorías principales. El primer tipo muestra vínculo con **cifras plasmáticas aumentadas de AGL** que dependen de la movilización de grasa desde el tejido adiposo o de la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína por la lipoproteína lipasa en tejidos extrahepáticos. La producción de VLDL no lleva el mismo ritmo que el flujo hacia adentro y esterificación cada vez mayores de AGL, lo que permite que se acumule triacilglicerol, que a su vez ocasiona hígado graso. Esto ocurre durante la **inanición** y el consumo de **dietas con alto contenido de grasa.** También puede haber alteración de la capacidad para secretar VLDL (p. ej., en la inanición). En la **diabetes mellitus** no controlada, la **enfermedad de los corderos gemelos** y la **cetosis en ganado vacuno,** la infiltración grasa es lo bastante grave como para dar por resultado palidez (aspecto adiposo) visible y agrandamiento del hígado con posible disfunción hepática.

El segundo tipo de hígado graso por lo general se debe a un **bloqueo metabólico en la producción de lipoproteínas plasmáticas**, lo que permite que se acumule triacilglicerol. En teoría, la lesión quizá se deba a: 1) bloqueo de la síntesis de apolipoproteína; 2) bloqueo de la síntesis de la lipoproteína a partir de lípido y apolipoproteína; 3) fracaso en el suministro de fosfolípidos que se encuentran en las lipoproteínas, o 4) fracaso del mecanismo secretorio mismo.

Un tipo de hígado graso que se ha estudiado de manera extensa en ratas se produce por una deficiencia de **colina** que, en consecuencia, se ha llamado un **factor lipotrópico.** El antibiótico puromicina, la etionina (ácido α-amino-γ-mercaptobutírico), el tetracloruro de carbono, cloroformo, fósforo, plomo y arsénico originan hígado graso, y una notoria reducción de la concentración de VLDL en ratas. La colina no protegerá al organismo contra estos agentes, pero parece ayudar en la recuperación. La acción del tetracloruro de carbono probablemente comprende la formación de radicales libres que causan peroxidación lípida. La acción antioxidante de dietas complementadas con **vitamina E** proporciona cierta protección contra esto. Se cree que la acción de la etionina depende de una reducción de la disponibilidad de ATP debido a que remplaza metionina en la *S*-adenosilmetionina, lo que atrapa la adenina disponible y evita la síntesis de ATP. El **ácido orótico** también suscita hígado graso; se cree que interfiere con la glucosilación de la lipoproteína, lo que inhibe la liberación, y puede alterar también el reclutamiento de triacilglicerol hacia las partículas. Una deficiencia de vitamina E incrementa la necrosis hepática del tipo de hígado graso de deficiencia de colina. La vitamina E o una fuente de **selenio** añadida tiene un efecto protector al combatir la peroxidación lípida. Además de deficiencia de proteína, las deficiencias de ácido graso esencial y de vitamina (p. ej., ácido linoleico, piridoxina y ácido pantoténico) pueden producir infiltración adiposa del hígado.

El etanol también ocasiona hígado graso

El **hígado graso de origen alcohólico** es la primera etapa de la **hepatopatía alcohólica** que se produce por **alcoholismo** y por último produce **cirrosis**. La grasa se acumula en el hígado por una combinación de oxidación de ácidos grasos alterada y aumento de la lipogénesis, que se cree que se debe a cambios del potencial redox

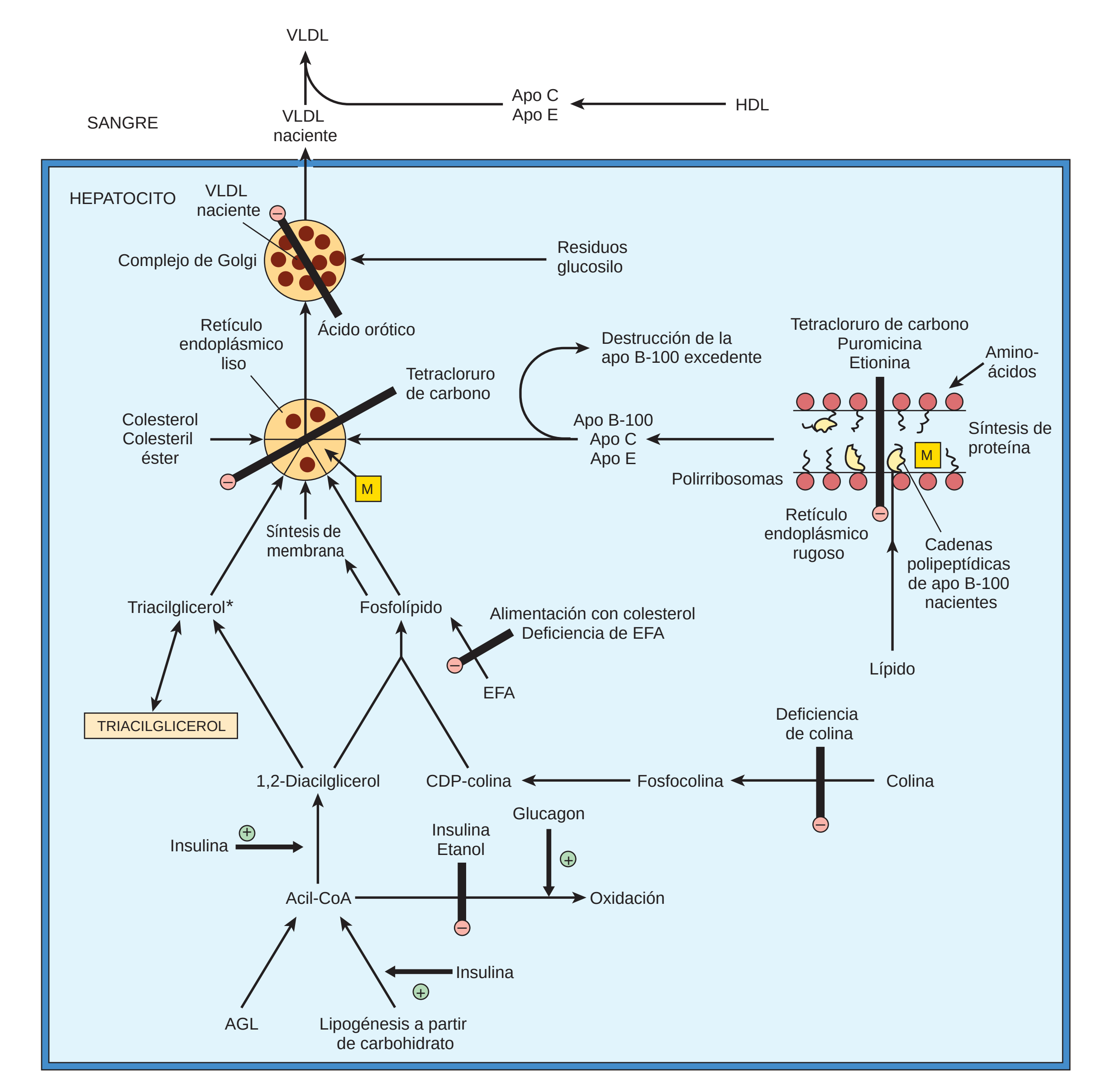


FIGURA 25-6 La síntesis de VLDL en hígado y los posibles lugares de acción de factores que ocasionan la acumulación de triacilglicerol e hígado graso. (EFA, ácidos grasos esenciales; AGL, ácidos grasos libres; HDL, lipoproteínas de alta densidad; Apo, apolipoproteína; M, proteína de transferencia de triacilglicerol microsómica.) Las vías indicadas forman una base para los eventos descritos en la figura 25-2. El principal fondo común de triacilglicerol (resaltado en un cuadrado de color naranja) en el hígado no está en la vía directa de síntesis de VLDL desde acil-CoA. Así, los AGL, la insulina y el glucagon tienen efectos inmediatos sobre la secreción de VLDL, puesto que sus efectos repercuten de modo directo sobre el pequeño fondo común de precursor de triacilglicerol*. En el estado por completo alimentado, la síntesis de apo B-100 excede los requerimientos para la secreción de VLDL y el excedente se destruye en el hígado. Durante la traducción de apo B-100, el transporte de lípido mediado por proteína de transferencia microsómica permite que el lípido se asocie con la cadena polipeptídica naciente. Luego de liberación desde los ribosomas, estas partículas se fusionan con más lípidos provenientes del retículo endoplásmico liso, lo que produce LDL naciente.

[NADH]/[NAD$^+$] en el hígado, y a interferencia con la acción de factores de transcripción que regulan la expresión de las enzimas comprendidas en las vías. La oxidación de etanol por la **alcohol deshidrogenasa** da pie a la producción excesiva de NADH.

$$\underset{\textbf{Etanol}}{CH_3-CH_2-OH} \xrightarrow[NAD^+ \;\rightarrow\; NADH + H^+]{\text{ALCOHOL DESHIDROGENASA}} \underset{\textbf{Acetaldehído}}{CH_3-CHO}$$

El NADH generado compite con equivalentes reductores provenientes de otros sustratos, entre ellos ácidos grasos, por la cadena respiratoria; ello inhibe su oxidación y da por resultado incremento de la esterificación de ácidos grasos para formar triacilglicerol, lo que origina hígado graso. La oxidación del etanol lleva a la formación de acetaldehído, que es oxidado por la **aldehído deshidrogenasa,** lo que produce acetato. La proporción [NADH]/[NAD$^+$] aumentada también origina incremento del [lactato]/[piruvato], lo que causa **hiperlacticacidemia**, que aminora la excreción de ácido úrico, lo cual agrava la **gota**. Algo del metabolismo de etanol tiene

lugar por medio de un oxidante de etanol microsómico (MEOS) dependiente del citocromo P450, que comprende NADPH y O_2. La actividad de este sistema aumenta en el **alcoholismo crónico**, y puede explicar el incremento de la depuración metabólica en esta enfermedad. El etanol también inhibe el metabolismo de algunos fármacos, por ejemplo, barbitúricos, al competir por enzimas dependientes del citocromo P450.

$$CH_3—CH_2—OH + NADPH + H^+ + O_2 \xrightarrow{MEOS} CH_3—CHO + NADP^+ + 2H_2O$$

Etanol → Acetaldehído

En algunas poblaciones asiáticas e indios americanos, el consumo de alcohol suscita reacciones adversas aumentadas al acetaldehído debido a un defecto genético de la aldehído deshidrogenasa mitocondrial.

EL TEJIDO ADIPOSO ES LA PRINCIPAL RESERVA DE TRIACILGLICEROL EN EL CUERPO

Los triacilgliceroles se almacenan en el tejido adiposo en **gotitas de lípido** grandes, y están pasando de modo continuo por lipólisis (hidrólisis) y reesterificación (fig. 25-7). Estos dos procesos son vías por completo diferentes que comprenden distintos reactivos y enzimas. Esto permite que muchos factores nutricionales, metabólicos y hormonales regulen por separado los procesos de esterificación o lipólisis. El equilibrio entre estos dos procesos determina la magnitud del fondo común de AGL en el tejido adiposo que, a su vez, determina las cifras de AGL circulantes en plasma. Puesto que esta última tiene efectos más profundos sobre el metabolismo de otros tejidos, en particular el hígado y el músculo, los factores que operan en el tejido adiposo que regulan el flujo de salida de AGL ejercen una influencia más allá del tejido mismo.

El suministro de glicerol 3-fosfato regula la esterificación: la lipasa sensible a hormona controla la lipólisis

El triacilglicerol se sintetiza a partir de acil-CoA y glicerol 3-fosfato (fig. 24-2). Dado que la enzima **glicerol cinasa** no se expresa en el tejido adiposo, el glicerol no puede utilizarse para el suministro de glicerol 3-fosfato, que debe obtenerse a partir de la glucosa mediante glucólisis.

El triacilglicerol pasa por hidrólisis por medio de una **lipasa sensible a hormona** para formar AGL y glicerol. Esta lipasa es distinta de la lipoproteína lipasa, que cataliza la hidrólisis de triacilglicerol de lipoproteína antes de su captación hacia tejidos extrahepáticos (véase antes). Puesto que el glicerol no puede utilizarse, entra en la sangre y es captado y transportado hacia tejidos como el hígado y los riñones, que poseen una glicerol cinasa activa. Los AGL formados mediante lipólisis pueden reconvertirse en el tejido adiposo hacia acil-CoA por la **acil-CoA sintetasa** y reesterificarse con glicerol 3-fosfato para formar triacilglicerol. Así, hay un **ciclo continuo de lipólisis y reesterificación dentro del tejido.** No obstante, cuando el índice de reesterificación no basta para igualar el índice de lipólisis, se acumulan AGL y se difunden hacia el plasma, donde

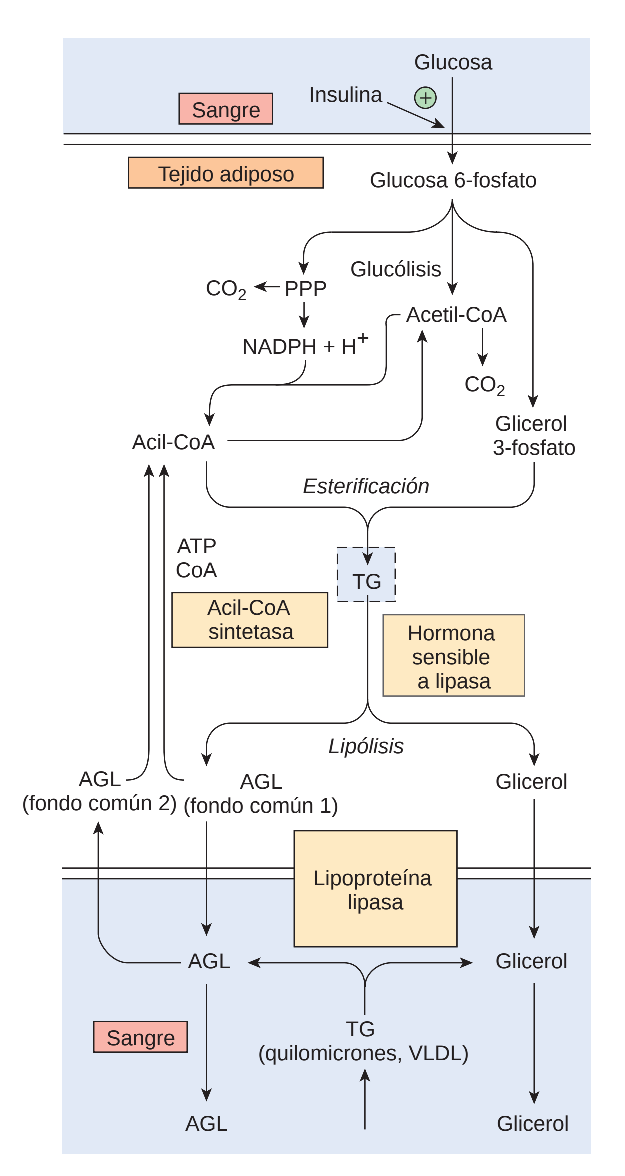


FIGURA 25-7 Metabolismo del triacilglicerol en el tejido adiposo. La lipasa sensible a hormona es activada por ACTH, TSH, glucagon, epinefrina, norepinefrina y vasopresina, e inhibida por insulina, prostaglandina E_1 y ácido nicotínico. Los detalles de la formación de glicerol 3-fosfato a partir de intermediarios de la glucólisis se muestran en la figura 24-2. (PPP, vía de la pentosa fosfato; TG, triacilglicerol; AGL, ácidos grasos libres; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.)

se unen a la albúmina e incrementan la concentración plasmática de AGL.

El metabolismo de glucosa aumentado reduce el gasto de AGL

Cuando hay incremento de la utilización de glucosa por el tejido adiposo, el flujo de salida de AGL disminuye. Sin embargo, la liberación de glicerol continúa, lo que demuestra que el efecto de la glucosa no está mediado por reducción del índice de lipólisis. El efecto se debe al suministro de glicerol 3-fosfato, que aumenta la esterificación de AGL. La glucosa puede tomar varias vías en el tejido adiposo, entre ellas oxidación hacia CO_2 por medio del ciclo del ácido cítrico, oxidación en la vía de la pentosa fosfato, conversión en ácidos

grasos de cadena larga, y formación de acilglicerol mediante el glicerol 3-fosfato (fig. 25-7). Cuando la utilización de glucosa es alta, una proporción más grande de la captación se oxida hacia CO_2, y se convierte en ácidos grasos. Empero, a medida que la utilización total de glucosa disminuye, la mayor proporción de la glucosa se dirige hacia la formación de glicerol 3-fosfato para la esterificación de acil-CoA, lo que ayuda a minimizar el flujo de salida de AGL.

LAS HORMONAS REGULAN LA MOVILIZACIÓN DE GRASA

La insulina inhibe la lipólisis en el tejido adiposo

El índice de liberación de AGL a partir del tejido adiposo está afectado por muchas hormonas que influyen sobre el índice de esterificación o el de lipólisis. La **insulina** inhibe la liberación de AGL a partir del tejido adiposo, lo cual va seguido por decremento de los AGL que circulan en el plasma. Incrementa la lipogénesis y la síntesis de acilglicerol, así como la oxidación de glucosa hacia CO_2 por medio de la vía de la pentosa fosfato. Todos estos efectos dependen de la presencia de glucosa y pueden explicarse, en gran medida, con base en la capacidad de la insulina para aumentar la captación de glucosa hacia las células adiposas mediante el **transportador GLUT 4**. La insulina también incrementa la actividad de la piruvato deshidrogenasa, acetil-CoA carboxilasa, y glicerol fosfato aciltransferasa, lo que refuerza los efectos de la captación aumentada de glucosa sobre el incremento de la síntesis de ácidos grasos y acilglicerol. Estas tres enzimas están reguladas de una manera coordinada por mecanismos de fosforilación-desfosforilación.

Una de las acciones principales de la insulina en el tejido adiposo consiste en inhibir la actividad de **lipasa sensible a hormona**, lo que disminuye la liberación no sólo de AGL sino también de glicerol. El tejido adiposo es considerablemente más sensible a la insulina que muchos otros tejidos, lo cual apunta al tejido adiposo como un sitio importante de acción de la insulina *in vivo*.

Varias hormonas promueven la lipólisis

Otras hormonas aceleran la liberación de AGL desde el tejido adiposo, e incrementan las cifras plasmáticas de AGL al aumentar el índice de lipólisis de las reservas de triacilglicerol (fig. 25-8); son epinefrina,

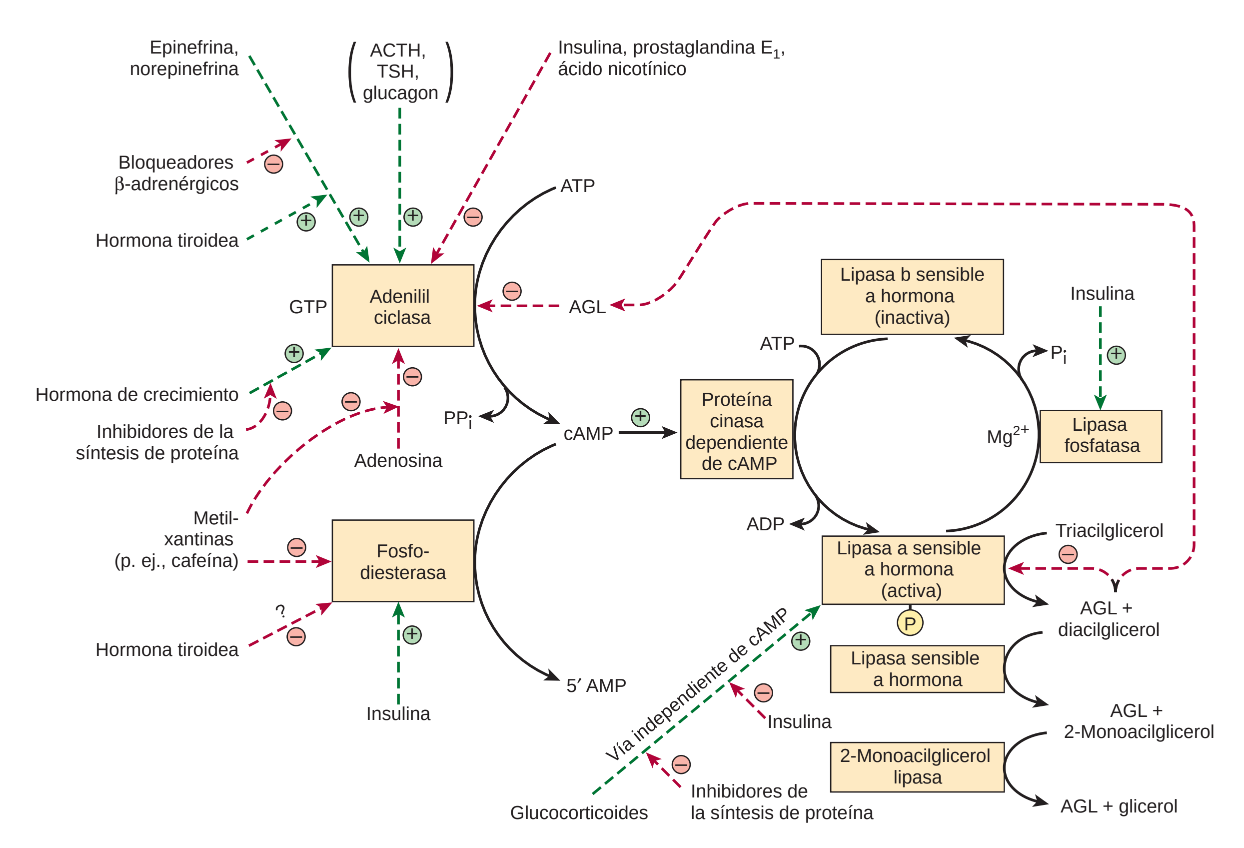


FIGURA 25-8 Control de la lipólisis de tejido adiposo. (TSH, hormona estimulante de la tiroides; AGL, ácidos grasos libres.) Note la secuencia de reacciones en cascada que permiten la amplificación en cada paso. El estímulo lipolítico se "desactiva" por eliminación de la hormona estimulante; la acción de la lipasa fosfatasa; la inhibición de la lipasa y la adenilil ciclasa por concentraciones altas de AGL; la inhibición de la adenilil ciclasa por la adenosina, y la eliminación de cAMP por la acción de la fosfodiesterasa. La ACTH, la TSH y el glucagon tal vez no activen la adenilil ciclasa *in vivo,* dado que las cifras de cada hormona requerida *in vitro* son considerablemente mayores que las que se encuentran en la circulación. Los efectos reguladores positivo (⊕) y negativo (⊖) están representados por líneas discontinuas y el flujo de sustrato por líneas continuas.

norepinefrina, glucagon, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), hormonas estimulantes de melanocitos (MSH) α y β, hormona estimulante de la tiroides (TSH), hormona de crecimiento (GH) y vasopresina. Muchas de éstas activan a la lipasa sensible a hormona. Para que el efecto sea óptimo, casi todos estos procesos lipolíticos necesitan la presencia de **glucocorticoides** y **hormonas tiroideas**. Estas hormonas actúan en una calidad **facilitadora** o **permisiva** en lo que se refiere a otros factores endocrinos lipolíticos.

Las hormonas que actúan con rapidez en la promoción de la lipólisis, esto es, las catecolaminas, lo hacen al estimular la actividad de la **adenilil ciclasa,** la enzima que convierte el ATP en cAMP. El mecanismo es análogo al que se encarga de la estimulación hormonal de la glucogenólisis (cap. 19). El cAMP, al estimular la **proteína cinasa dependiente de cAMP,** activa a la lipasa sensible a hormona. De este modo, los procesos que destruyen el cAMP o que lo preservan influyen sobre la lipólisis. El cAMP se degrada hacia 5′-AMP por la enzima **3′,5′-nucleótido fosfodiesterasa cíclica**. Esta enzima es inhibida por metilxantinas como **cafeína** y **teofilina**. La **insulina** antagoniza el efecto de las hormonas lipolíticas. La lipólisis parece ser más sensible a cambios de la concentración de insulina que la utilización de glucosa y la esterificación. Los efectos antilipolíticos de la insulina, el ácido nicotínico y la prostaglandina E_1 se explican por inhibición de la síntesis de cAMP en el sitio de la adenilil ciclasa, actuando por medio de una proteína G_i. La insulina también estimula a la fosfodiesterasa y la lipasa fosfatasa que desactiva a la lipasa sensible a hormona. El efecto de la GH en la promoción de la lipólisis depende de la síntesis de proteínas comprendidas en la formación de cAMP. Los glucocorticoides promueven la lipólisis mediante la síntesis de nueva proteína lipasa por medio de una vía independiente de cAMP, que puede ser inhibida por la insulina, y al promover la transcripción de genes comprendidos en la cascada de señales del cAMP. Estos datos ayudan a explicar la participación de la hipófisis y de la corteza suprarrenal en el aumento de la movilización de grasa. El tejido adiposo secreta hormonas como **adiponectina,** que modula el metabolismo de glucosa y de lípido en el músculo y el hígado, y **leptina,** que regula la homeostasis de energía. Aunque la lectina protege contra la obesidad en roedores, las pruebas actuales sugieren que su principal función en seres humanos es actuar como una señal de suficiencia de energía más que de exceso de energía.

El sistema nervioso simpático, mediante liberación de norepinefrina en el tejido adiposo, tiene una participación fundamental en la movilización de AGL. De esta manera, el incremento de la lipólisis que se produce por muchos de los factores antes descritos se puede reducir o suprimir por desnervación del tejido adiposo o por bloqueo ganglionar.

La perilipina regula el equilibrio entre almacenamiento y lipólisis de triacilglicerol en adipocitos

La **perilipina**, una proteína comprendida en la formación de gotitas de lípido en adipocitos, inhibe la lipólisis en condiciones basales al impedir el acceso de las enzimas lipasas a los triacilgliceroles almacenados. Con todo, en el momento de la estimulación con hormonas que promueven la degradación de triacilglicerol, la proteína dirige la lipasa sensible a hormona hacia la superficie de gotitas de lípido y, así, promueve la lipólisis. Por ende, la perilipina permite que el almacenamiento y la desintegración de triacilglicerol estén coordinados de acuerdo con las necesidades metabólicas del cuerpo.

El tejido adiposo de seres humanos quizá no sea un sitio importante de lipogénesis

No hay incorporación importante de glucosa o piruvato hacia ácidos grasos de cadena larga; la ATP-citrato liasa, una enzima clave en

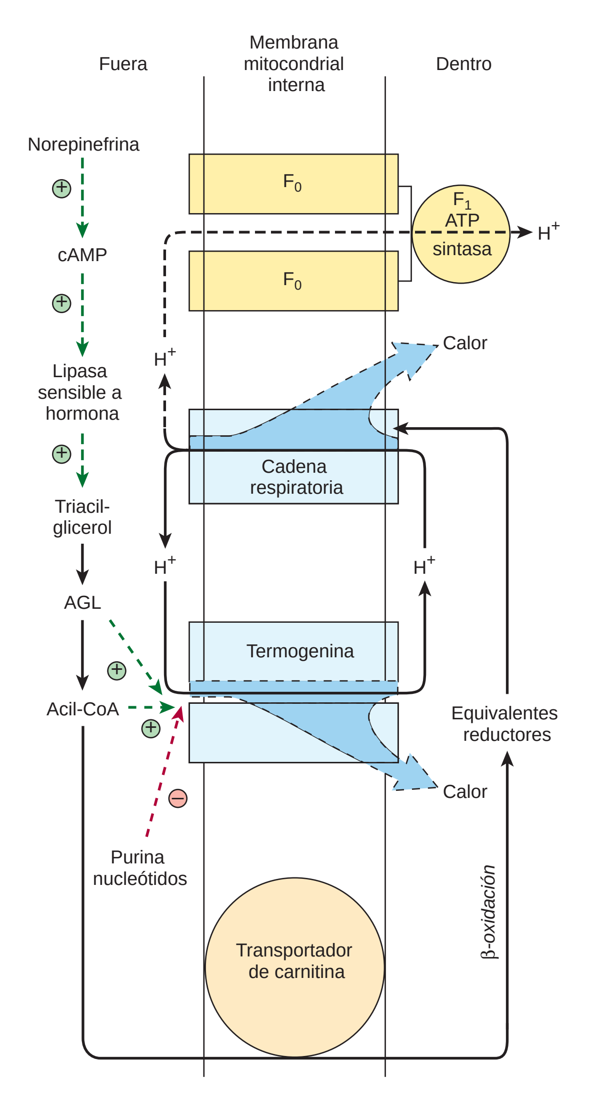


FIGURA 25-9 Termogénesis en el tejido adiposo pardo. La actividad de la cadena respiratoria produce calor además de translocar protones (cap. 13). Estos protones disipan más calor cuando son regresados hacia el compartimiento mitocondrial interno mediante la termogenina en lugar de por medio de la F_1 ATP sintasa, la ruta que genera ATP (fig. 13-7). El paso de H^+ mediante la termogenina es inhibido por purina nucleótidos cuando el tejido adiposo pardo no está estimulado. Bajo la influencia de la norepinefrina, la inhibición se elimina por la producción de AGL y acil-CoA. Note la función doble de la acil-CoA tanto en la facilitación de la acción de la termogenina como en el suministro de equivalentes reductores para la cadena respiratoria. ⊕ y ⊖ significan efecto regulador positivo o negativo.

la lipogénesis, no parece estar presente y otras enzimas lipogénicas —por ejemplo, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la enzima málica— no pasan por cambios adaptativos. De hecho, se ha sugerido que en seres humanos hay un "síndrome de exceso de carbohidratos" debido a una limitación singular de la capacidad para eliminar el exceso de carbohidrato por medio de lipogénesis. En aves, la lipogénesis está confinada al hígado, donde es en particular importante en el suministro de lípidos para la formación de huevos, estimulada por estrógenos.

EL TEJIDO ADIPOSO PARDO PROMUEVE LA TERMOGÉNESIS

El tejido adiposo pardo participa en el metabolismo, sobre todo en periodos en que se requiere generación de calor. De este modo, el tejido es en extremo activo en algunas especies durante el despertar que ocurre después de hibernación, en animales expuestos al frío (termogénesis sin estremecimiento), y en la producción de calor en el animal recién nacido. Aun cuando no es un tejido prominente en seres humanos, está presente en sujetos normales, donde podría ser la causa de **"termogénesis inducida por la dieta".** Cabe hacer notar que el tejido adiposo pardo está reducido o no se encuentra en personas obesas. El tejido se caracteriza por un riego sanguíneo bien desarrollado y un contenido alto de mitocondrias y citocromos, pero actividad baja de ATP sintasa. El hincapié metabólico se hace en la oxidación tanto de glucosa como de ácidos grasos. La **norepinefrina** liberada a partir de terminaciones nerviosas simpáticas tiene importancia en el aumento de la lipólisis en el tejido y de la síntesis de lipoproteína lipasa para incrementar la utilización de lipoproteínas ricas en triacilglicerol desde la circulación. La oxidación y fosforilación no están acopladas en las mitocondrias de este tejido, y la fosforilación que ocurre es en el ámbito de sustrato, por ejemplo, en el paso de la succinato tiocinasa y en la glucólisis. De esta manera, la **oxidación produce mucho calor, y poca energía libre es atrapada en ATP.** Una proteína desacopladora termógena, la **termogenina,** actúa como una vía de conductancia de protón que disipa el potencial electroquímico a través de la membrana mitocondrial (fig. 25-9).

RESUMEN

- Dado que los lípidos no polares son insolubles en agua, para transporte entre los tejidos en el plasma sanguíneo acuoso se combinan con lípidos y proteínas an páticos para hacer lipoproteínas miscibles en agua.
- Se reconocen cuatro grupos principales de lipoproteínas: los quilomicrones transportan lípidos que se producen por la digestión y la absorción. Las VLDL transportan triacilglicerol desde el hígado; las LDL llevan colesterol a los tejidos y las HDL eliminan colesterol de los tejidos y lo regresan al hígado para excreción en el proceso conocido como transporte inverso de colesterol.
- Los quilomicrones y la VLDL se metabolizan mediante hidrólisis de su triacilglicerol, y quedan remanentes de lipoproteína en la circulación, los cuales son captados por el hígado, pero algunos de los remanentes (IDL) originados a partir de VLDL forman LDL, que es captada por el hígado y otros tejidos por medio del receptor de LDL.
- Las apolipoproteínas constituyen la porción proteína de lipoproteínas. Actúan como activadores de enzima (p. ej., apo C-II y apo A-I) o como ligandos para receptores celulares (p. ej., apo A-I, apo E y apo B-100).
- El triacilglicerol es el principal lípido de almacenamiento en el tejido adiposo. En el momento de la movilización, se liberan AGL y glicerol. Los AGL son una importante fuente de combustible.
- El tejido adiposo pardo es el sitio de "termogénesis sin estremecimiento". Se encuentra en animales en hibernación y recién nacidos, y está presente en pequeña cantidad en seres humanos. La termogénesis se produce por la presencia de una proteína desacopladora, la termogenina, en la membrana mitocondrial interna.

REFERENCIAS

Arner P: Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2005;19:471.

Brasaemle DL: Thematic review series: adipocyte biology. The perilipin family of structural lipid droplet proteins: stabilization of lipid droplets and control of lipolysis. J Lipid Res 48:2547.

Goldberg IJ, Merkel M: Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry and molecular biology. Front Biosci 2001;6:D388.

Holm C et al: Molecular mechanisms regulating hormone sensitive lipase and lipolysis. Annu Rev Nutr 2000;20:365.

Kershaw EE, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab 2004;89:2548.

Lenz A, Diamond FB: Obesity: the hormonal milieu. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes 2008;15:9.

Redgrave TG: Chylomicron metabolism. Biochem Soc Trans 2004;32:79.

Rye K-A et al: Overview of plasma lipid transport. In: *Plasma Lipids and Their Role in Disease.* Barter PJ, Rye K-A (editors). Harwood Academic Publishers, 1999:1–16.

Schreuder TC et al: Nonalcoholic fatty liver disease: an overview of current insights in pathogenesis, diagnosis and treatment. World J Gastroenterol 2008;14:2474.

Sell H, Deshaies Y, Richard D: The brown adipocyte: update on its metabolic role. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:2098.

Shelness GS, Sellers JA: Very-low-density lipoprotein assembly and secretion. Curr Opin Lipidol 2001;12:151.

Various authors: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008.

C A P Í T U L O

26

Síntesis, transporte y excreción de colesterol

Kathleen M. Botham, PhD, DSc y Peter A. Mayes, PhD, DSc

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El **colesterol** está presente en los tejidos y en el plasma, sea como colesterol libre o combinado con un ácido graso de cadena larga como colesteril éster, la forma de almacenamiento. En el plasma, ambas formas se transportan en lipoproteínas (cap. 25). El colesterol es un lípido anfipático y, como tal, es un componente estructural esencial de las membranas, y de la capa externa de las lipoproteínas plasmáticas. Se sintetiza en muchos tejidos a partir de la acetil-CoA, y es el precursor de todos los otros esteroides en el organismo, incluso corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. Como un producto típico del metabolismo en animales, el colesterol se encuentra en alimentos de origen animal, como yema de huevo, carne, hígado y cerebro. La lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática es el vehículo de captación de colesterol y colesteril éster hacia muchos tejidos. El colesterol libre se elimina de los tejidos por medio de la lipoproteína de alta densidad (HDL) plasmática, y se transporta hacia el hígado, donde se elimina del cuerpo, sea sin cambios o después de conversión en ácidos biliares en el proceso conocido como **transporte inverso de colesterol** (cap. 25). El colesterol es un constituyente importante de los **cálculos biliares.** Sin embargo, su principal participación en procesos patológicos es como un factor en la génesis de **aterosclerosis** de arterias vitales, lo que da por resultado enfermedad cerebrovascular, coronaria y vascular periférica.

EL COLESTEROL SE DERIVA CASI POR IGUAL DE LA DIETA Y DE BIOSÍNTESIS

Poco más de la mitad del colesterol del cuerpo surge por síntesis (alrededor de 700 mg/día), y el resto proviene de la dieta promedio. El hígado y el intestino dan cuenta de cerca de 10% cada uno de la síntesis total en seres humanos. Casi todos los tejidos que contienen células nucleadas tienen la capacidad de síntesis de colesterol, la cual ocurre en el retículo endoplásmico y el citosol.

La acetil-CoA es la fuente de todos los átomos de carbono en el colesterol

La biosíntesis de colesterol se divide en cinco pasos: 1) síntesis de mevalonato a partir de acetil-CoA (fig. 26-1). 2) La formación de unidades isoprenoides a partir del mevalonato por pérdida de CO_2 (fig. 26-2). 3). La condensación de seis unidades isoprenoides forma escualeno (fig. 26-2). 4) La ciclización de escualeno da lugar al esteroide madre, lanosterol. 5) Formación de colesterol a partir de lanosterol (fig. 26-3).

Paso 1. Biosíntesis de mevalonato: la HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA) se forma por las reacciones que se usan en las mitocondrias para sintetizar cuerpos cetónicos (fig. 22-7). Empero, dado que la síntesis de colesterol es extramitocondrial, las dos vías son diferentes. Al principio, dos moléculas de acetil-CoA se condensan para formar acetoacetil-CoA, lo cual es catalizado por la **tiolasa** citosólica. La acetoacetil-CoA se condensa con otra molécula de acetil-CoA, paso catalizado por la **HMG-CoA sintasa,** para formar HMG-CoA, a la cual el NADPH reduce a **mevalonato**, reacción catalizada por la HMG-**CoA reductasa.** Éste es el principal paso regulador en la vía de la síntesis de colesterol, y es el sitio de acción de la clase más eficaz de fármacos que disminuyen el colesterol, las estatinas, que son inhibidores de la HMG-CoA reductasa (fig. 26-1).

Paso 2. Formación de unidades isoprenoides: el ATP fosforila de modo secuencial el mevalonato mediante tres cinasas y, luego de descarboxilación (fig. 26-2), se forma la unidad isoprenoide activa, el **isopentenil difosfato.**

Paso 3. Seis unidades isoprenoides forman escualeno: el isopentenil difosfato es isomerizado por medio de un desplazamiento del doble enlace para formar **dimetilalil difosfato,** que después se condensa con otra molécula de isopentenil difosfato para formar el intermediario de 10 carbonos **geranil difosfato** (fig. 26-2). Una condensación adicional con isopentenil difosfato forma **farnesil difosfato.** Dos moléculas de este último se condensan en el extremo difosfato para formar el **escualeno.** En un inicio se elimina el pirofosfato inorgánico, lo cual forma prescualeno difosfato, que luego se reduce mediante NADPH con eliminación de una molécula de pirofosfato inorgánico adicional.

Paso 4. Formación de lanosterol: el escualeno puede plegarse hacia una estructura que semeja de manera estrecha el núcleo esteroide (fig. 26-3). Antes de que se cierre el anillo, una oxidasa de función mixta en el retículo endoplásmico, la **escualeno epoxidasa,** convierte al escualeno en escualeno 2,3-epóxido. El grupo metilo en el C_{14} se transfiere hacia C_{13} y el grupo metilo en C_8 se transfiere a C_{14} conforme sucede ciclización, lo cual es catalizado por la **oxido-escualeno:lanosterol ciclasa.**

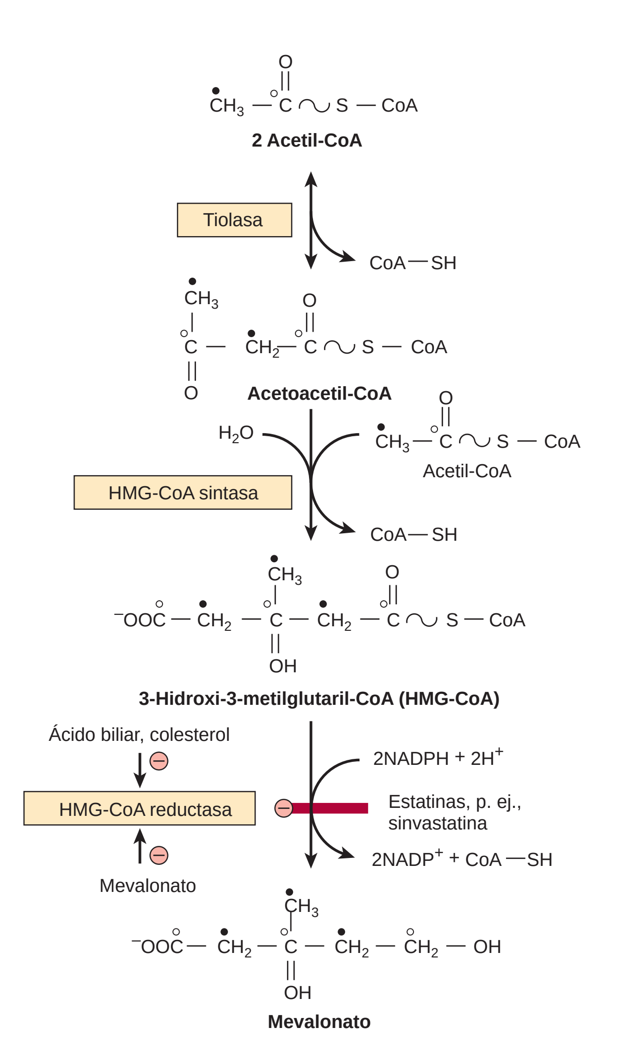


FIGURA 26-1 Biosíntesis de mevalonato. Las estatinas inhiben la HMG-CoA reductasa. Los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA.

Paso 5. Formación de colesterol: la formación de colesterol a partir de **lanosterol** tiene lugar en las membranas del retículo endoplásmico, e incluye cambios en el núcleo y la cadena lateral esteroides (fig. 26-3). Los grupos metilo en C_{14} y C_4 se eliminan para formar 14-desmetil lanosterol y después zimosterol. El doble enlace en C_8-C_9 luego se mueve hacia C_5-C_6 en dos pasos, lo que forma **desmosterol.** Por último, el doble enlace de la cadena lateral se reduce, lo que genera colesterol.

El farnesil difosfato da lugar a dolicol y ubiquinona

Los poliisoprenoides **dolicol** (fig. 15-20 y cap. 47) y **ubiquinona** (fig. 13-5) se forman a partir del farnesil difosfato por medio de la adición de hasta 16 (dolicol) o 3 a 7 (ubiquinona) residuos isopentenil difosfato (fig. 26-2). Algunas **proteínas de unión a GTP** en la membrana celular están preniladas con residuos farnesil o geranilgeranil (20 carbonos). Se cree que la **prenilación de proteína** facilita la fijación de proteínas en membranas lipoides, y quizá también participe en interacciones entre una proteína y otra, y en el tráfico de proteína relacionado con membrana.

LA REGULACIÓN DE LA HMG-CoA REDUCTASA CONTROLA LA SÍNTESIS DE COLESTEROL

La síntesis de colesterol se regula cerca del principio de la vía, en el paso de la HMG-CoA reductasa. La síntesis reducida de colesterol en animales en inanición se acompaña de un decremento de la actividad de la enzima. Con todo, el colesterol de la dieta sólo inhibe la síntesis hepática. La HMG-CoA reductasa en el hígado es inhibida por el mevalonato, el producto intermediario de la vía, y por colesterol, el principal producto. El colesterol y los metabolitos reprimen la transcripción de la HMG-CoA reductasa mediante activación de un factor de transcripción **proteína de unión a elemento regulador esterol (SREBP).** Las SREBP son una familia de proteínas que regulan la transcripción de una gama de genes comprendidos en la captación y el metabolismo celulares de colesterol y otros lípidos: ocurre una **variación diurna** de la síntesis de colesterol y la actividad de reductasa. Además de estos mecanismos que regulan el índice de síntesis de proteína, la modificación postraduccional también modula con mayor rapidez la actividad enzimática (fig. 26-4). La **insulina o** la **hormona tiroidea** aumenta la actividad de la HMG-CoA reductasa, mientras que el **glucagon** o los **glucocorticoides** la aminoran. Mecanismos de fosforilación-desfosforilación modifican de modo reversible la actividad; algunos de estos mecanismos pueden ser dependientes de cAMP y, en consecuencia, tienen capacidad de respuesta inmediata al glucagon. Los intentos por disminuir el colesterol plasmático en seres humanos al reducir la cantidad de colesterol en la dieta producen resultados variables. En general, un decremento de 100 mg del colesterol de la dieta origina una aminoración de alrededor de 0.13 mmol/L de suero.

MUCHOS FACTORES INFLUYEN SOBRE EL EQUILIBRIO DE COLESTEROL EN LOS TEJIDOS

En los tejidos, el equilibrio del colesterol se regula como sigue (fig. 26-5): el incremento de colesterol en las células se debe a la captación de lipoproteínas que contienen colesterol por receptores, por ejemplo, el receptor de LDL o el receptor recolector, captación de colesterol libre desde lipoproteínas con alto contenido de colesterol hacia la membrana celular, la síntesis de colesterol, e hidrólisis de colesteril ésteres por la enzima **colesteril éster hidrolasa.** La disminución se debe a flujo de salida de colesterol desde la membrana hacia HDL por medio de ABCA1, ABCG1 o SR-B1 (fig. 25-5). La esterificación de colesterol por **ACAT** (acil-CoA:colesterol aciltransferasa), y utilización de colesterol para la síntesis de otros esteroides, como hormonas, o ácidos biliares en el hígado.

El receptor de LDL está muy regulado

Los receptores de LDL (apo B-100, E) existen sobre la superficie celular en hoyuelos que están cubiertos sobre el lado citosólico de la membrana celular con una proteína denominada clatrina. El receptor de glucoproteína abarca la membrana; la región de unión B-100 está en el extremo amino terminal expuesto. Después de unión, la LDL es captada intacta mediante endocitosis. La apoproteína y el

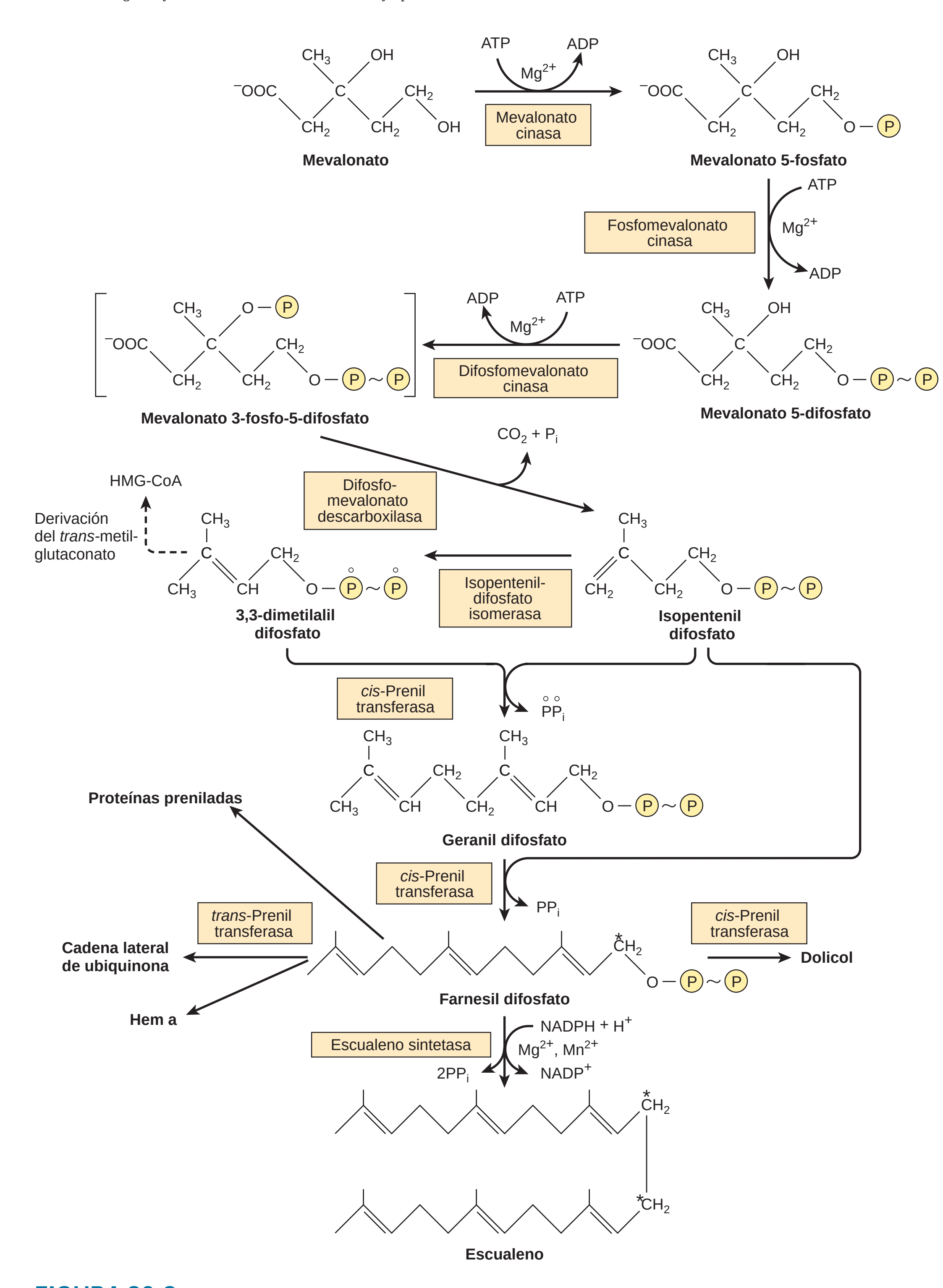


FIGURA 26-2 Biosíntesis de escualeno, ubiquinona, dolicol y otros derivados poliisopreno (HMG, 3-hidroxi-3-metilglutaril.) Hay un residuo farnesilo en el hem a de la citocromo oxidasa. El carbono marcado con un asterisco se convierte en C_{11} o C_{12} en el escualeno. La escualeno sintetasa es una enzima microsómica; todas las otras enzimas indicadas son proteínas citosólicas solubles y algunas se encuentran en peroxisomas.

colesteril éster a continuación se hidrolizan en los lisosomas, y el colesterol se transloca hacia la célula. Los receptores se reciclan hacia la superficie celular. Este flujo hacia adentro de colesterol inhibe la transcripción de los genes que codifican para la HMG-CoA sintasa, la HMG-CoA reductasa y otras enzimas involucradas en la síntesis de colesterol, así como el receptor de LDL en sí, por medio de la vía de la SREBP y, así, de manera coordinada suprime la síntesis y captación de colesterol. Además, la actividad de la ACAT se estimula, lo que promueve la esterificación de colesterol. De este modo, la actividad del receptor de LDL sobre la superficie celular está regulada por el requerimiento de colesterol para síntesis de membranas, hormonas esteroides o ácidos biliares (fig. 26-5).

FIGURA 26-3 Biosíntesis de colesterol. Las posiciones numeradas son las del núcleo esteroide, y los círculos blancos y negros indican el destino de cada uno de los carbonos en la porción acetilo de la acetil-CoA. (*Véase el marcado del escualeno en la figura 26-2.)

EL COLESTEROL SE TRANSPORTA ENTRE TEJIDOS EN LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS

El colesterol se transporta en el plasma en lipoproteínas; la mayor parte en forma de colesteril éster (fig. 26-6) y en seres humanos la proporción más alta se encuentra en la LDL. El colesterol en la dieta se equilibra con el colesterol plasmático en días y con el colesterol hístico en semanas. El colesteril éster en la dieta se hidroliza hacia colesterol, que a continuación se absorbe en el intestino junto con el colesterol no esterificado y otros lípidos de la dieta. Con el colesterol que se sintetiza en los intestinos, a continuación se incorpora hacia quilomicrones (cap. 25). Del colesterol absorbido, 80 a 90% se esterifica con ácidos grasos de cadena larga en la mucosa intestinal. Del colesterol de quilomicrón, 95% se lleva al hígado en remanentes de quilomicrón, y la mayor parte del colesterol secretado por el hígado en VLDL se retiene durante la formación de IDL y por último de LDL, que es captada por el receptor de LDL en el hígado y los tejidos extrahepáticos (cap. 25).

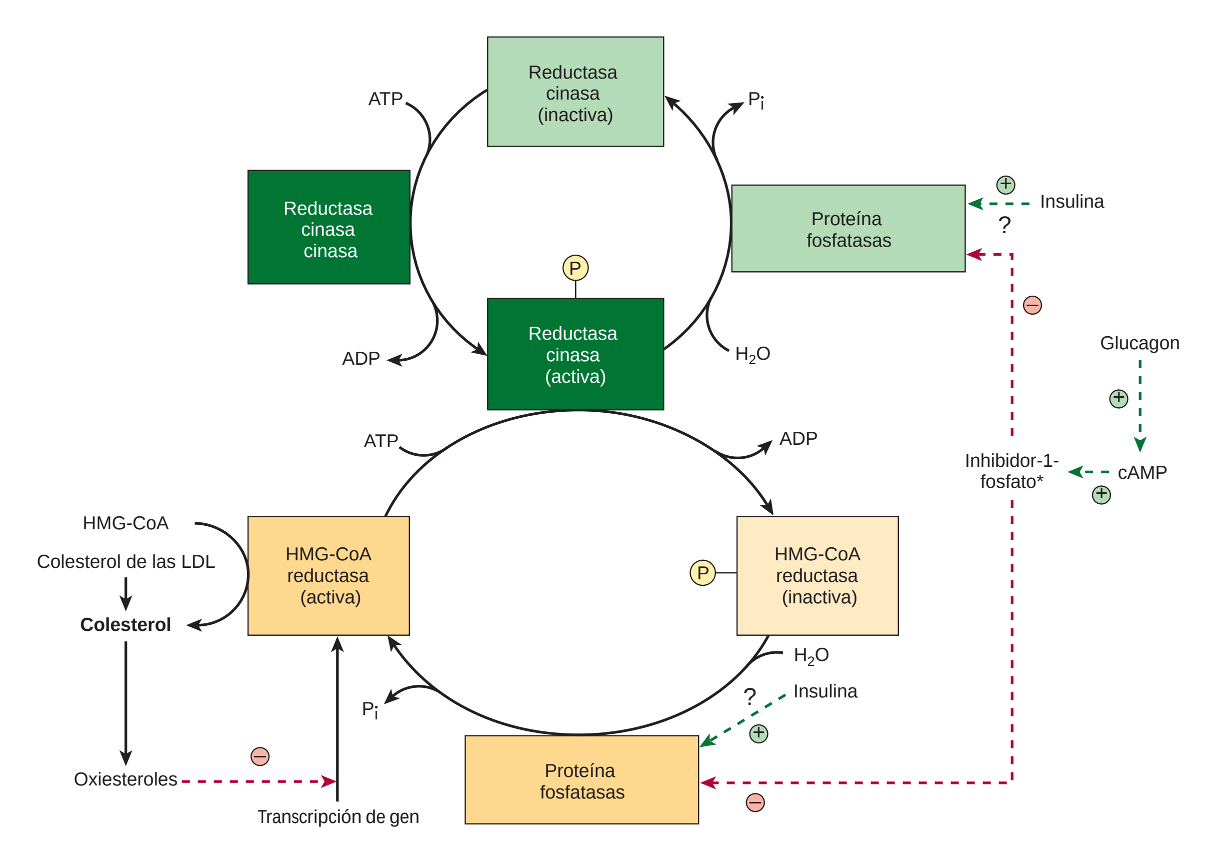


FIGURA 26-4 Posibles mecanismos en la regulación de la síntesis de colesterol por la HMG-CoA reductasa. La insulina tiene una participación dominante en comparación con el glucagon. (*Véase la figura 19-6.)

Casi todo el colesteril éster plasmático en seres humanos depende de la LCAT plasmática

La actividad de la **lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)** se relaciona con HDL que contiene apo A-I. A medida que el colesterol en HDL se esterifica, crea un gradiente de concentración e introduce colesterol desde los tejidos y desde otras lipoproteínas (figs. 26-5 y 26-6), lo que permite al HDL funcionar en el **transporte inverso de colesterol** (fig. 25-5).

La proteína de transferencia de colesteril éster facilita la transferencia de este último desde HDL hacia otras lipoproteínas

Esta proteína, relacionada con HDL, se encuentra en el plasma de seres humanos y muchas otras especies. Facilita la transferencia de colesteril éster desde HDL hacia VLDL, IDL y LDL en intercambio por triacilglicerol, lo que alivia la inhibición por producto de la actividad de LCAT en HDL. De esta manera, en seres humanos, gran parte del colesteril éster formado por LCAT encuentra su camino hacia el hígado mediante remanentes de VLDL (IDL) o LDL (fig. 26-6). La HDL_2 enriquecida con triacilglicerol, lleva su colesterol hacia el hígado en el ciclo de la HDL (fig. 25-5).

EL COLESTEROL SE EXCRETA DESDE EL CUERPO EN LA BILIS COMO COLESTEROL O ÁCIDOS (SALES) BILIARES

El colesterol se excreta del organismo por medio de la bilis sea en forma no esterificada o luego de conversión en ácidos biliares en el hígado. El **coprostanol** es el principal esterol en las heces; las bacterias lo forman a partir del colesterol en la parte baja del intestino.

Los ácidos biliares se forman a partir de colesterol

Los **ácidos biliares primarios** se sintetizan en el hígado a partir de colesterol, se trata del **ácido cólico** (que se encuentra en la mayor cantidad) y el **ácido quenodesoxicólico** (fig. 26-7). La 7α-hidroxilación de colesterol es el primer y principal paso regulador en la biosíntesis de ácidos biliares, y es catalizada por la **colesterol 7α-hidroxilasa,** una enzima microsómica. Una monooxigenasa típica requiere oxígeno, NADPH y citocromo P450. Los pasos de hidroxilación subsiguientes también son catalizados por monooxigenasas. La vía de la biosíntesis de ácido biliar se divide en etapas tempranas hacia una subvía que lleva a **colil-CoA,** caracterizada por un grupo α-OH extra en la posición 12 y otra vía que lleva a **quenodesoxicolil-CoA** (fig. 26-7). Una segunda vía en las mitocondrias que comprende la 27-hidroxilación de colesterol por la **esterol 27-hidroxilasa** como el primer paso explica una proporción importante de los

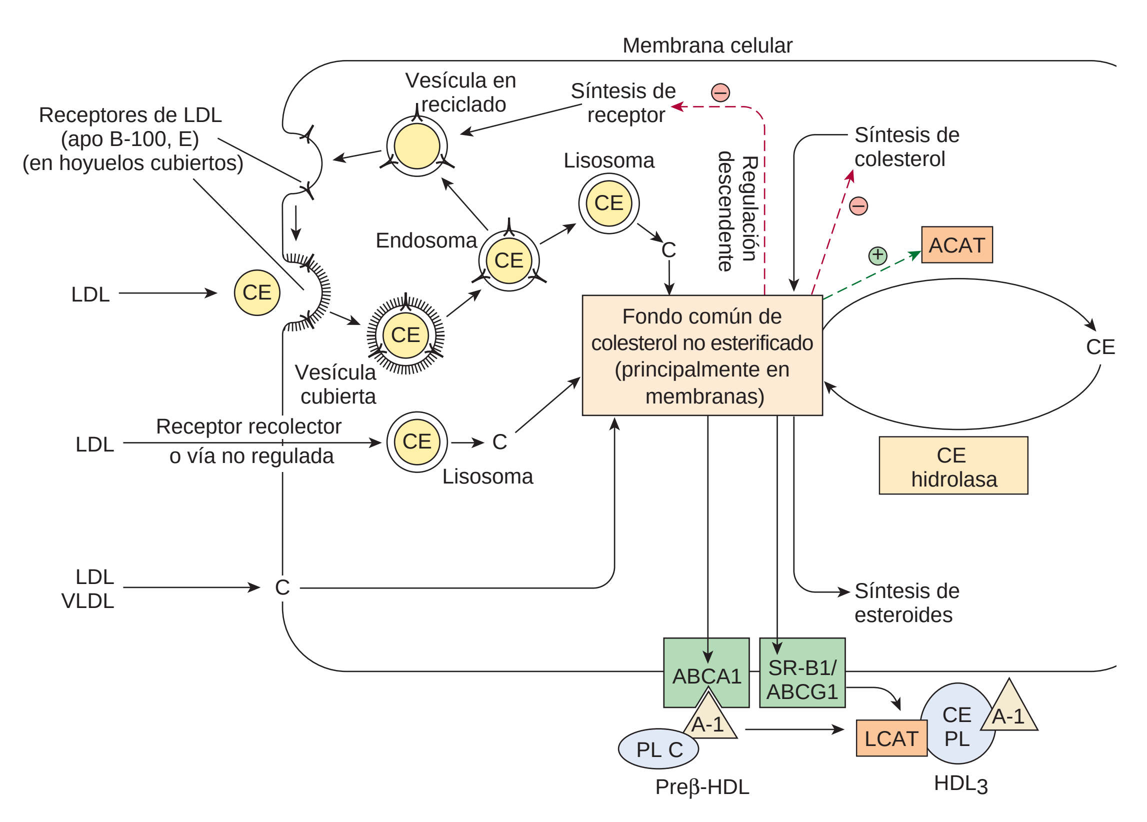


FIGURA 26-5 Factores que afectan el equilibrio de colesterol en el ámbito celular. El transporte inverso de colesterol puede estar mediado mediante la proteína transportadora ABCA-1 (con preβ-HDL como el aceptor exógeno) o el SR-B1 o ABCG-1 (con HDL_3 como el aceptor exógeno). (C, colesterol; CE, colesteril éster; PL, fosfolípido; ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; A-I, apolipoproteína A-I; LDL, lipoproteína de baja densidad; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad.) La LDL y HDL no se muestran a escala.

ácidos biliares primarios sintetizados. Los ácidos biliares primarios (fig. 26-7) entran a la bilis como conjugados de glicina o taurina. La conjugación tiene lugar en peroxisomas. En seres humanos, la proporción entre conjugados de glicina y de taurina normalmente es de 3:1. En la bilis alcalina (pH de 7.6 a 8.4), se supone que los ácidos biliares y sus conjugados están en una forma de sal; de ahí el término "sales biliares".

Una porción de los ácidos biliares primarios en el intestino está sujeta a cambios adicionales mediante la actividad de las bacterias intestinales, las cuales incluyen desconjugación y 7α-deshidroxilación, que producen los **ácidos biliares secundarios,** ácido desoxicólico y ácido litocólico.

Casi todos los ácidos biliares regresan al hígado en la circulación enterohepática

Aun cuando los productos de la digestión de grasa, incluso el colesterol, se absorben en los primeros 100 cm del intestino delgado, los ácidos biliares primarios y secundarios se absorben de modo casi exclusivo en el íleon, y 98 a 99% se regresa hacia el hígado por medio de la circulación porta. Esto se conoce como la **circulación enterohepática** (fig. 26-6). Aun así, el ácido litocólico, debido a su insolubilidad, no se reabsorbe en un grado importante. Sólo una pequeña fracción de las sales biliares escapa a la absorción y, por ende, se elimina en las heces. Como quiera que sea, esto representa una vía importante para la eliminación de colesterol. Cada día el pequeño fondo común de ácidos biliares (de 3 a 5 g) pasa 6 a 10 veces por un ciclo por el intestino, y una cantidad de ácido biliar equivalente a la que se pierde en las heces se sintetiza a partir de colesterol, de manera que se mantiene un fondo común de ácidos biliares de tamaño constante. Esto se logra mediante un sistema de controles por retroacción.

La síntesis de ácido biliar está regulada en el paso de la 7α-hidroxilasa

El principal paso limitante en la biosíntesis de ácidos biliares está en la **reacción de colesterol 7α-hidroxilasa** (fig. 26-7). La actividad de la enzima está regulada por retroacción por medio del receptor de unión a ácido biliar nuclear **receptor X farnesoide (FXR).** Cuando aumenta el tamaño del fondo común de ácidos biliares en la circulación enterohepática, el FXR se activa, y se suprime la transcripción del gen que codifica para la colesterol 7α-hidroxilasa. El ácido quenodesoxicólico tiene especial importancia en la activación de FXR. La actividad de la colesterol 7α-hidroxilasa también se incrementa por el colesterol de origen endógeno y de la dieta, y está regulada por insulina, glucagon, glucocorticoides y hormona tiroidea.

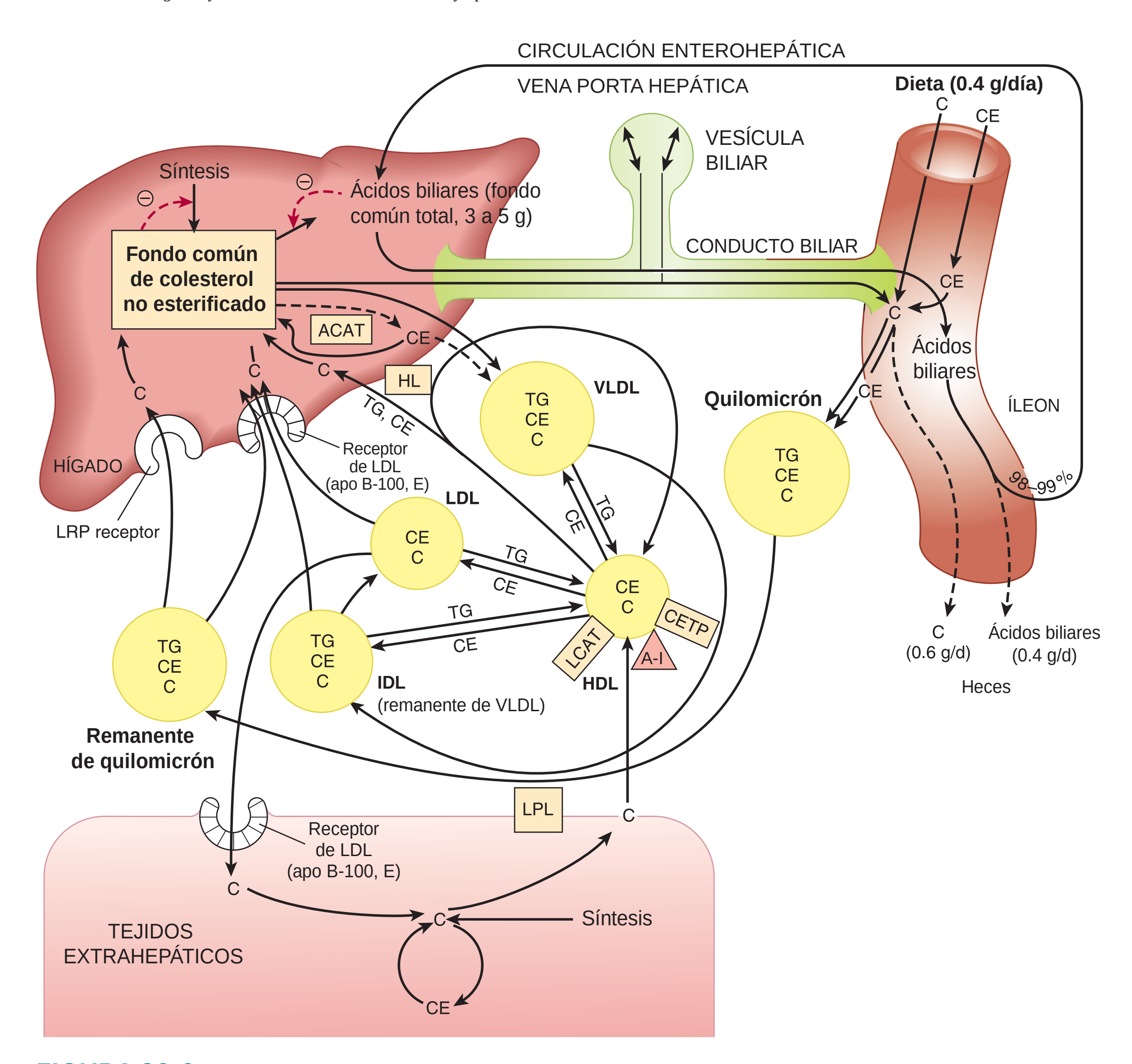


FIGURA 26-6 Transporte de colesterol entre los tejidos en seres humanos. (C, colesterol no esterificado; CE, colesteril éster; TG, triacilglicerol; VLDL, lipoproteína de muy baja densidad; IDL, lipoproteína de densidad intermedia; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad; ACAT, acil-CoA:colesterol aciltransferasa; LCAT, lecitina:colesterol aciltransferasa; A-I, apolipoproteína A-I; CETP, proteína de transferencia de colesteril éster; LPL, lipoproteína lipasa; HL, lipasa hepática; LRP, proteína relacionada con el receptor de LDL.)

ASPECTOS CLÍNICOS

El colesterol sérico se correlaciona con la incidencia de aterosclerosis y cardiopatía coronaria

Si bien se cree que las concentraciones plasmáticas altas de colesterol (> 5.2 mmol/L) son un factor importante en la promoción de la aterosclerosis, ahora se reconoce que los triacilgliceroles son un factor de riesgo independiente. La aterosclerosis se caracteriza por el depósito de colesterol y colesteril éster desde las proteínas plasmáticas hacia la pared arterial. Las enfermedades en las cuales hay incremento prolongado de las cifras de LDL, IDL, remanentes de quilomicrón, o LDL en la sangre (p. ej., diabetes mellitus, nefrosis lípida, hipotiroidismo y otros estados de hiperlipidemia) suelen acompañarse de aterosclerosis prematura o más grave. También hay una relación inversa entre las concentraciones de HDL (HDL_2) y la cardiopatía coronaria, lo que hace que la **proporción de colesterol de LDL:HDL sea un buen parámetro predictivo.** Esto es congruente con la función de la HDL en el transporte inverso de colesterol. La susceptibilidad a aterosclerosis varía de manera significativa entre las especies, y los seres humanos son una de las pocas en las cuales la enfermedad se induce por dietas con alto contenido de colesterol.

La dieta puede tener importancia en la reducción del colesterol sérico

Los factores hereditarios tienen la función más importante en la determinación de las cifras de colesterol sérico individuales; de cualquier modo, también participan factores de la dieta y ambientales, y el más beneficioso de éstos es la sustitución de los ácidos grasos saturados en la dieta por **ácidos grasos poliinsaturados** y **monoinsaturados.** Los aceites vegetales, como el aceite de maíz y el aceite de se-

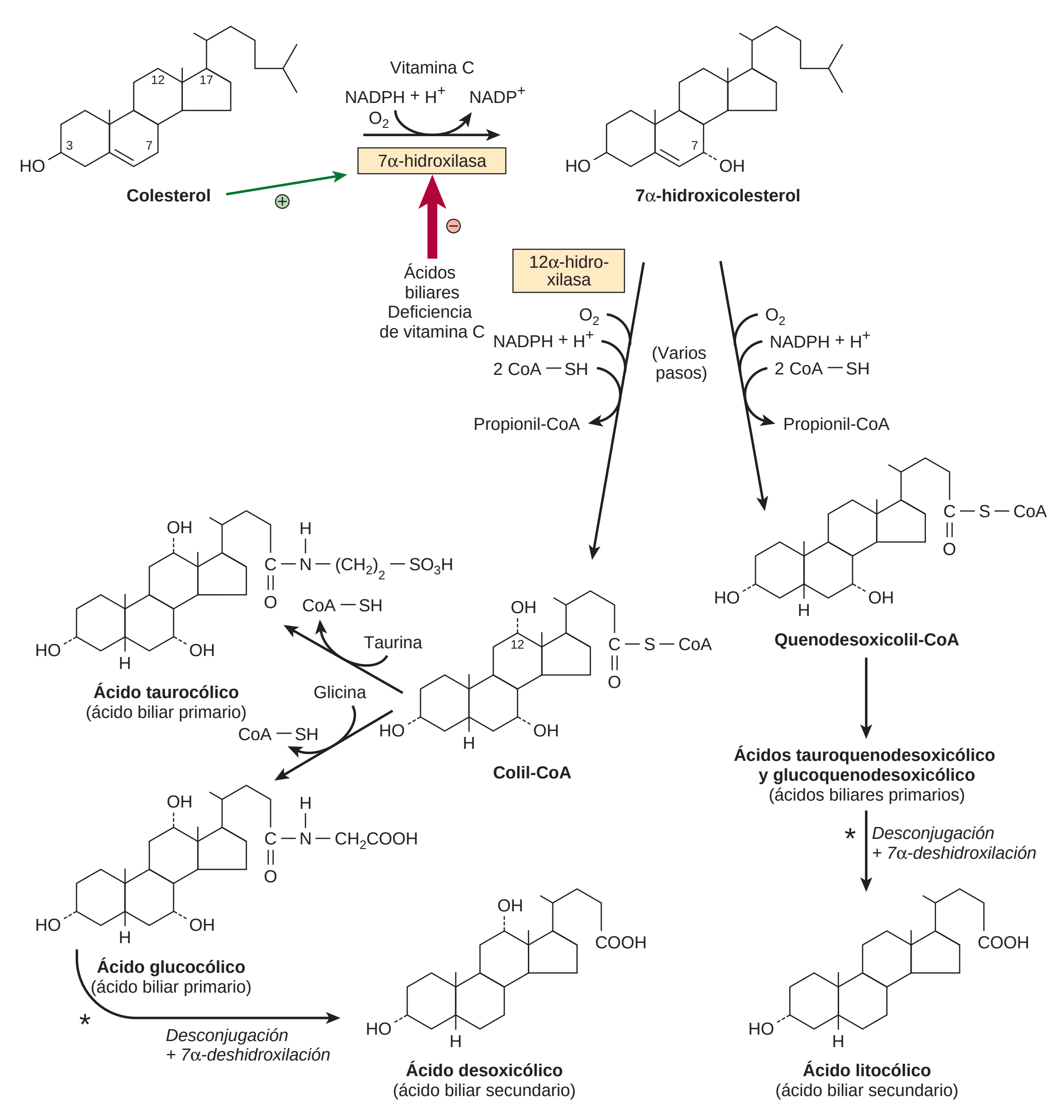


FIGURA 26-7 Biosíntesis y degradación de ácidos biliares. Una segunda vía en las mitocondrias comprende la hidroxilación de colesterol por la esterol 27-hidroxilasa. *Catalizada por enzimas microbianas.

millas de girasol, contienen una proporción alta de ácidos grasos poliinsaturados, mientras que el aceite de oliva contiene una concentración alta de ácidos grasos monoinsaturados. Por otra parte, la grasa de la mantequilla, la grasa de la carne de res, y el aceite de palma contienen una proporción alta de ácidos grasos saturados. La sacarosa y la fructosa tienen mayor efecto en el aumento de los lípidos en la sangre, en particular triacilgliceroles, que otros carbohidratos.

Aún no se entiende por completo el motivo del efecto de decremento del colesterol, de los ácidos grasos poliinsaturados. No obstante, está claro que uno de los mecanismos comprendidos es la regulación ascendente de los receptores de LDL por ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados en comparación con los saturados, lo que causa un incremento del índice catabólico de LDL, la principal lipoproteína aterogénica. Más aún, los ácidos grasos saturados suscitan la formación de partículas de VLDL de menor tamaño que contienen relativamente más colesterol, así como los tejidos extrahepáticos, las utilizan a un índice más lento que las partículas de mayor tamaño, tendencias que pueden considerarse aterogénicas.

El estilo de vida afecta las cifras séricas de colesterol

Otros factores que se considera que participan en la cardiopatía coronaria son **presión arterial alta, tabaquismo, género masculino, obesidad (en especial obesidad abdominal), falta de ejercicio y consumo de agua blanda en contraposición con dura.** Los factores relacionados con aumento de los AGL plasmáticos seguido por incremento del gasto de triacilglicerol y colesterol hacia la circulación en VLDL son el **estrés emocional** y el **consumo de café.** Las mujeres premenopáusicas parecen estar protegidas contra muchos de estos factores perjudiciales y se cree que esto se relaciona con los efectos beneficiosos de los estrógenos. Hay una relación entre el consumo

moderado de alcohol y una incidencia más baja de cardiopatía coronaria. Esto tal vez se deba al aumento de las concentraciones de HDL producidas por incremento de la síntesis de apo A-I y cambios de la actividad de la proteína de transferencia de colesteril éster. Se ha afirmado que el vino tinto es en particular benéfico, quizá debido a su contenido de antioxidantes. El ejercicio regular aminora la LDL plasmática, pero aumenta la HDL. Las cifras de triacilglicerol también se reducen, debido más probablemente a incremento de la sensibilidad a la insulina, que aumenta la expresión de lipoproteína lipasa.

Cuando los cambios de la dieta fracasan, los medicamentos hipolipidémicos reducirán el colesterol y el triacilglicerol séricos

Una familia de fármacos conocidos como estatinas ha resultado muy eficaz para disminuir el colesterol plasmático y evitar enfermedad del corazón. Las estatinas actúan al inhibir la HMG-CoA reductasa y regular de modo ascendente la actividad del receptor de LDL. Los ejemplos en uso actual son **atorvastatina, sinvastatina, fluvastatina** y **pravastatina.** La **ezetimiba** reduce las concentraciones sanguíneas de colesterol al inhibir la absorción de colesterol por el intestino al bloquear la captación mediante la **proteína parecida a la C1 de Neimann-Pick**. Otros medicamentos usados incluyen fibratos como el **clofibrato,** y el **genfibrozil** y el **ácido nicotínico,** que actúan sobre todo para producir decremento de los triacilgliceroles plasmáticos al aminorar la secreción hepática de VLDL que contienen triacilglicerol y colesterol.

Los trastornos primarios de las lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias) son hereditarios

Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína conducen a la enfermedad primaria de **hipolipoproteinemia** o **hiperlipo-**

CUADRO 26-1 Trastornos primarios de lipoproteínas plasmáticas (dislipoproteinemias)

Nombre	Defecto	Observaciones
Hipolipoproteinemias Abetalipoproteinemia	No se forman quilomicrones, VLDL o LDL debido a defectos de la carga de apo B con lípido.	Es rara; acilgliceroles bajos en sangre; el intestino y el hígado acumulan acilgliceroles. Malabsorción intestinal. La muerte temprana es evitable por medio de administración de dosis grandes de vitaminas liposolubles, en especial vitamina E.
Deficiencia familiar de α-lipoproteína Enfermedad de Tangier Enfermedad de ojo de pescado Deficiencias de apo-A-I	En todas hay HDL baja o falta casi total de la misma.	Tendencia hacia hipertriacilglicerolemia como resultado de falta de apo C-II, que causa LPL inactiva. Cifras bajas de LDL. Aterosclerosis en ancianos.
Hiperlipoproteinemias Deficiencia familiar de lipoproteína lipasa (tipo I)	Hipertriacilglicerolemia debida a deficiencia de LPL, LPL anormal o deficiencia de apo C-II que produce LPL inactiva.	Depuración lenta de quilomicrones y VLDL. Concentraciones bajas de LDL y de HDL. No hay aumento del riesgo de coronariopatía.
Hipercolesterolemia familiar (tipo IIa)	Receptores de LDL defectuosos o mutación en la región ligando de apo B-100.	Cifras altas de LDL e hipercolesterolemia, que suscitan aterosclerosis y enfermedad coronaria.
Hiperlipoproteinemia familiar tipo III (enfermedad de beta amplia, enfermedad por eliminación de remanente, disbetalipoproteinemia familiar)	La deficiencia de la depuración de remanente por el hígado se debe a anormalidad de la apo E. Los pacientes carecen de isoformas E3 y E4, y sólo tienen E2, que no reacciona con el receptor E.[1]	Incremento de remanentes de quilomicrón y de VLDL de densidad < 1.019 (β-VLDL). Produce hipercolesterolemia, xantomas y aterosclerosis.
Hipertriacilglicerolemia familiar (tipo IV)	Producción excesiva de VLDL a menudo relacionada con intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia.	Las concentraciones de colesterol aumentan con las cifras de VLDL. La LDL y la HDL tienden a ser subnormales. Este tipo de modelo por lo general se relaciona con cardiopatía coronaria, diabetes mellitus tipo II, obesidad, alcoholismo y administración de hormonas progestacionales.
Hiperalfalipoproteinemia familiar	Incremento de las concentraciones de HDL.	Una enfermedad rara al parecer beneficiosa para la salud y la longevidad.
Deficiencia de lipasa hepática	La deficiencia de la enzima lleva a acumulación de remanentes de HDL y VLDL ricos en triacilglicerol.	Los enfermos tienen xantomas y cardiopatía coronaria.
Deficiencia familiar de lecitina:colesterol aciltransferasa (LCAT)	La falta de LCAT conduce a bloqueo del transporte inverso de colesterol. La HDL permanece como discos nacientes incapaces de captar colesterol y esterificarlo.	Las concentraciones plasmáticas de colesteril ésteres y lisolecitina son bajas. Hay una fracción de LDL anormal, lipoproteína X, que también se encuentra en individuos con colestasis. La VLDL es anormal (β-VLDL).
Exceso familiar de lipoproteína (a)	La Lp (a) consta de 1 mol de LDL fijo a 1 mol de apo (a). La apo (a) muestra homología estructural con el plasminógeno.	Cardiopatía coronaria prematura debida a aterosclerosis, más trombosis debida a inhibición de la fibrinólisis.

[1] Hay una relación entre sujetos que poseen el alelo de apo E4 y la incidencia de enfermedad de Alzheimer. Al parecer, la apo E4 se une con más avidez al β-amiloide que se encuentra en las placas neuríticas.

proteinemia (cuadro 26-1). Además, las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal (síndrome nefrótico) y la aterosclerosis, se relacionan con modelos de lipoproteínas anormales secundarios que son muy similares a una u otra de las enfermedades hereditarias primarias. Casi todas las enfermedades primarias se deben a un defecto a una etapa de formación, transporte o destrucción de lipoproteína (figs. 25-4, 26-5 y 26-6). No todas las anormalidades son perjudiciales.

RESUMEN

- El colesterol es el precursor de todos los otros esteroides en el cuerpo, por ejemplo, corticosteroides, hormonas sexuales, ácidos biliares y vitamina D. También desempeña una función estructural importante en las membranas y en la capa externa de lipoproteínas.
- El colesterol se sintetiza en el organismo por completo a partir de la acetil-CoA. Tres moléculas de acetil-CoA forman mevalonato por medio de la importante reacción reguladora para la vía, catalizada por la HMG-CoA reductasa. A continuación se forma una unidad de isoprenoide de cinco carbonos y seis de éstas se condensan para formar escualeno; este último pasa por ciclos para formar el esteroide madre lanosterol, que después de la pérdida de tres grupos metilo, forma colesterol.
- La síntesis de colesterol en el hígado está regulada en parte por el colesterol en la dieta. En los tejidos, el equilibrio del colesterol se mantiene entre los factores que ocasionan ganancia de colesterol (p. ej., síntesis, captación mediante LDL o receptores recolectores) y los factores que dan por resultado pérdida de colesterol (p. ej., síntesis de esteroide, formación de colesteril éster, excreción). La actividad del receptor de LDL es modulada por las cifras celulares de colesterol para lograr este equilibrio. En el transporte inverso de colesterol, la HDL capta colesterol desde los tejidos, y la LCAT lo esteri ca y deposita en el centro de las partículas. El colesteril éster en la HDL es captado por el hígado, sea de manera directa o luego de transferencia hacia VLDL, IDL o LDL por medio de la proteína de transferencia de colesteril éster.
- El colesterol excesivo se excreta desde el hígado en la bilis como colesterol o sales biliares. Una proporción grande de estas últimas se absorbe hacia la circulación porta y regresa hacia el hígado como parte de la circulación enterohepática.
- Las concentraciones altas de colesterol presentes en VLDL, IDL o LDL se relacionan con aterosclerosis, mientras que las cifras altas de HDL tienen un efecto protector.
- Los defectos hereditarios del metabolismo de lipoproteína dan pie a un estado primario de hipolipoproteinemia o hiperlipoproteinemia. Las enfermedades como la diabetes mellitus, el hipotiroidismo, la enfermedad renal y la aterosclerosis muestran modelos de lipoproteína anormales secundarios que semejan ciertas enfermedades primarias.

REFERENCIAS

Chiang JL: Regulation of bile acid synthesis: pathways, nuclear receptors and mechanisms. J Hepatol 2004;40:539.

Denke MA: Dietary fats, fatty acids and their effects on lipoproteins. Curr Atheroscler Rep 2006;8:466.

Jiang XC, Zhou HW: Plasma lipid transfer proteins. Curr Opin Lipidol 2006;17:302.

Ness GC, Chambers CM: Feedback and hormonal regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: the concept of cholesterol buffering capacity. Proc Soc Exp Biol Med 2000;224:8.

Parks DJ et al: Bile acids: natural ligands for a nuclear orphan receptor. Science 1999;284:1365.

Russell DW: Cholesterol biosynthesis and metabolism. Cardiovascular Drugs Therap 1992;6:103.

Spady DK, Woollett LA, Dietschy JM: Regulation of plasma LDL cholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. Annu Rev Nutr 1993;13:355.

Various authors: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes,* 5th ed. Vance DE, Vance JE (editors). Elsevier, 2008.

Zhang FL, Casey PJ: Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. Annu Rev Biochem 1996;65:241.

CAPÍTULO 27

Biosíntesis de los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las inferencias médicas del material que se presenta en este capítulo se relacionan con los estados de deficiencia de aminoácidos que pueden producirse si faltan aminoácidos esenciales en la dieta, o si están presentes en cantidades inadecuadas. Los estados de deficiencia de aminoácidos, aun cuando son comparativamente raros en el mundo occidental, son endémicos en ciertas regiones de África occidental donde las dietas se fundamentan mucho en cereales que son fuentes inadecuadas de triptófano y lisina. Estos trastornos nutricionales incluyen **kwashiorkor,** que sobreviene cuando se desteta a un niño y se le suministra una dieta farinácea con poca proteína, y el **marasmo,** en el cual tanto la ingestión calórica como aminoácidos específicos son deficientes. Los individuos con síndrome de intestino corto que carecen de la capacidad para absorber suficientes cantidades de calorías y nutrientes sufren anormalidades nutricionales y metabólicas importantes. Tanto el trastorno nutricional **escorbuto**, una deficiencia de vitamina C en la dieta, como trastornos genéticos específicos, se relacionan con alteración de la capacidad del tejido conjuntivo para formar hidroxiprolina e hidroxilisina. La inestabilidad conformacional resultante del colágeno origina sangrado de encías, hinchazón de articulaciones, cicatrización inadecuada de heridas y la muerte. El **síndrome de Menkes,** que se caracteriza por pelo rizado y retraso del crecimiento, depende de una deficiencia de cobre en la dieta, que es un cofactor esencial para la lisil oxidasa, una enzima que funciona en la formación de los enlaces covalentes que fortalecen las fibras de colágeno. Los trastornos genéticos de la biosíntesis del colágeno comprenden varias formas de **osteogénesis imperfecta,** caracterizada por huesos frágiles, y **síndrome de Ehlers-Danlos,** un grupo de trastornos del tejido conjuntivo que suscitan hipermovilidad articular y anormalidades cutáneas debidas a defectos de los genes que codifican para enzimas que incluyen la lisil hidroxilasa (cap. 47).

AMINOÁCIDOS ESENCIALES Y NO ESENCIALES EN EL ASPECTO NUTRICIONAL

Aplicados a los aminoácidos, los términos "esencial" y "no esencial" son desorientadores, porque los 20 aminoácidos comunes son esenciales para asegurar la salud. De estos 20 aminoácidos, ocho *deben* estar presentes en la dieta del ser humano y, así, es mejor llamarlos *"esenciales desde el punto de vista nutricional";* los otros 12 son "*no esenciales en el aspecto nutricional*" porque no requieren estar presentes en la dieta (cuadro 27-1). La distinción entre estas dos clases de aminoácidos se estableció durante el decenio de 1930-1939 al alimentar a individuos humanos con aminoácidos purificados en lugar de proteína. Investigaciones bioquímicas subsiguientes revelaron las reacciones y los intermediarios comprendidos en la biosíntesis de los 20 aminoácidos.

Vías metabólicas largas forman los aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional

La existencia de requerimientos nutricionales sugiere que la dependencia de un aporte externo de un nutriente dado puede tener mayor valor para la supervivencia que la capacidad para biosintetizarlo. ¿Por qué? Si un nutriente específico está presente en el alimento, un organismo que puede sintetizarlo transferirá a su progenie información genética de valor *negativo* acerca de supervivencia. El valor respecto a supervivencia es negativo en lugar de nulo porque se necesitan ATP y nutrientes para sintetizar DNA "innecesario", incluso si genes codificados específicos ya no se expresan. El número de enzimas que las células procarióticas requieren para sintetizar los aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional es grande en comparación con el

CUADRO 27-1 Requerimientos de aminoácidos de seres humanos

Esencial desde el punto de vista nutricional	No esencial en el aspecto nutricional
Arginina[1]	Alanina
Fenilalanina	Glicina
Histidina	Asparagina
Isoleucina	Aspartato
Leucina	Cisteína
Lisina	Glutamato
Metionina	Glutamina
Treonina	Hidroxiprolina[2]
Triptófano	Hidroxilisina[2]
Valina	Prolina
	Serina
	Tirosina

[1] "Semiesencial" desde el punto de vista nutricional. Es sintetizada a índices inadecuados durante el crecimiento de los niños.
[2] No se requiere para la síntesis de proteína, pero se forma durante el procesamiento postraduccional de colágeno.

CUADRO 27-2 Enzimas requeridas para la síntesis de aminoácidos a partir de intermediarios anfibólicos

Número de enzimas requeridas para sintetizar			
Esencial en el aspecto nutricional		No esencial desde el punto de vista nutricional	
Arg[1]	7	Ala	1
His	6	Asp	1
Tre	6	Asn[2]	1
Met	5 (4 compartidas)	Glu	1
Lis	8	Gln[1]	1
Ile	8 (6 compartidas)	Hil[3]	1
Val	1 (7 compartidas)	Hip[4]	1
Leu	3 (7 compartidas)	Pro[1]	3
Fen	10	Ser	3
Trp	5 (8 compartidas)	Gli[5]	1
	59	Cis[6]	2
		Tir[7]	1
			17

[1] A partir de Glu. [2] A partir de Asp. [3] A partir de Lis. [4] A partir de Pro. [5] A partir de Ser. [6] A partir de Ser más S^{2-}. [7] A partir de Fe.

número de enzimas requeridas para sintetizar los aminoácidos no esenciales desde el punto de vista nutricional (cuadro 27-2). Esto sugiere una ventaja en cuanto a supervivencia al retener la capacidad para fabricar aminoácidos "fáciles" mientras que se pierde la capacidad para hacer aminoácidos "difíciles". En este capítulo se abordan las reacciones y los intermediarios involucrados en la biosíntesis por tejidos humanos de los 12 aminoácidos *no esenciales* desde el punto de vista nutricional, y trastornos nutricionales y metabólicos seleccionados relacionados con su metabolismo.

La glutamato deshidrogenasa, la glutamina sintetasa y las aminotransferasas tienen funciones cruciales en la biosíntesis de aminoácidos

La acción combinada de las enzimas glutamato deshidrogenasa, glutamina sintetasa y las aminotransferasas, convierte el ion amonio en el nitrógeno α-amino de los aminoácidos. Esto se ilustra a continuación por las vías cortas que convierten intermediarios anfibólicos en los aminoácidos no esenciales en el aspecto nutricional.

Glutamato

La glutamato deshidrogenasa cataliza la amidación reductiva de α-cetoglutarato (fig. 27-1); esta reacción constituye el primer paso en la biosíntesis de la "familia glutamato" de aminoácidos.

Glutamina

La amidación de glutamato hacia glutamina catalizada por la glutamina sintetasa (fig. 27-2) comprende la formación intermedia de γ-glutamil fosfato. Después de la unión ordenada de glutamato y ATP, el glutamato ataca el γ-fósforo del ATP, lo que forma γ-glutamil fosfato y ADP. A continuación se une el NH_4^+ y, al igual que el NH_3^+, ataca al γ-glutamil fosfato para formar un intermediario tetraédrico. La liberación de P_i y de un protón desde el grupo γ-amino del intermediario tetraédrico posteriormente facilita la liberación del producto, glutamina.

Alanina y aspartato

La transaminación de piruvato forma alanina (fig. 27-3). De modo similar, la transaminación del oxaloacetato forma aspartato.

FIGURA 27-1 Reacción de la glutamato deshidrogenasa.

FIGURA 27-2 Reacción de la glutamina sintetasa.

FIGURA 27-3 Formación de alanina por transaminación de piruvato. El donador de amino puede ser glutamato o aspartato. De esta manera, el otro producto es α-cetoglutarato u oxaloacetato.

FIGURA 27-4 La reacción de la asparagina sintetasa. Note las similitudes y las diferencias con la reacción de la glutamina sintetasa (fig. 27-2).

Asparagina

La conversión de aspartato en asparagina, catalizada por la asparagina sintetasa (fig. 27-4), semeja la reacción de la glutamina sintetasa (fig. 27-2), pero la glutamina, más que el ion amonio, proporciona el nitrógeno. Sin embargo, las asparagina sintetasas bacterianas también pueden usar ion amonio. La reacción involucra la formación intermedia de aspartil fosfato. La hidrólisis acoplada de PP_i hacia P_i por la pirofosfatasa asegura que la reacción se vea favorecida con fuerza.

Serina

La oxidación del grupo α-hidroxilo del intermediario glucolítico 3-fosfoglicerato por la 3-fosfoglicerato deshidrogenasa, lo convierte en 3-fosfohidroxipiruvato. La transaminación y la desfosforilación subsiguiente a continuación forman serina (fig. 27-5).

FIGURA 27-5 Biosíntesis de serina. (α-AA, α-aminoácidos; α-KA, α-cetoácidos.)

Glicina

Las glicina aminotransferasas pueden catalizar la síntesis de glicina a partir de glioxilato y glutamato o alanina. Al contrario de casi todas las reacciones de aminotransferasa, éstas favorecen con fuerza la síntesis de glicina. En mamíferos, otras vías importantes para la formación de glicina son a partir de colina (fig. 27-6) y de serina (fig. 27-7).

Prolina

En la biosíntesis de prolina a partir de glutamato se emplean reacciones similares a las del catabolismo de la prolina, pero en las cuales el glutamato γ-fosfato es un intermediario (fig. 27-8).

Cisteína

Si bien no es esencial desde el punto de vista nutricional, la cisteína se forma a partir de metionina, que sí lo es. Luego de conversión de metionina en homocisteína (fig. 29-19), la homocisteína y la serina forman cistationina, cuya hidrólisis forma cisteína y homoserina (fig. 27-9).

FIGURA 27-6 Formación de glicina a partir de colina. Las enzimas que catalizan las reacciones mostradas son la colina deshidrogenasa, betaína deshidrogenasa, betaína-homocisteína *N*-metiltransferasa, sarcosina desmetilasa y sarcosina oxidasa, respectivamente.

FIGURA 27-7 La reacción de serina hidroximetiltransferasa. La reacción es libremente reversible (H_4 folato, tetrahidrofolato).

FIGURA 27-8 Biosíntesis de prolina a partir de glutamato. Los catalíticos para estas reacciones son la glutamato 5-cinasa, la glutamato semialdehído deshidrogenasa, cierre de anillo no catalizado y pirrolina 5-carboxilato reductasa.

FIGURA 27-9 Conversión de homocisteína y serina en homoserina y cisteína. El azufre de la cisteína se deriva de la metionina, y el esqueleto de carbono, de la serina.

FIGURA 27-10 La reacción de la fenilalanina hidroxilasa. Hay dos actividades enzimáticas distintas involucradas. La actividad II cataliza la reducción de la dihidrobiopterina por el NADPH, y la actividad I la reducción de O_2 hacia H_2O y de fenilalanina a tirosina. Esta reacción se relaciona con varios defectos del metabolismo de la fenilalanina que se comentan en el capítulo 29.

Tirosina

La fenilalanina hidroxilasa convierte a la fenilalanina en tirosina (fig. 27-10). Si la dieta contiene cantidades adecuadas del aminoácido esencial desde el punto de vista nutricional fenilalanina, la tirosina es no esencial en ese sentido. Empero, dado que la reacción de la fenilalanina hidroxilasa es irreversible, la tirosina de la dieta no puede remplazar a la fenilalanina. La catálisis por medio de esta oxigenasa de función mixta incorpora un átomo de O_2 en la posición *para* de la fenilalanina y reduce el otro átomo a agua. El poder reductivo, proporcionado como tetrahidrobiopterina (fig. 27-10), finalmente deriva del NADPH.

Hidroxiprolina e hidroxilisina

Se encuentran sobre todo en el colágeno; puesto que no hay tRNA para uno u otro aminoácido hidroxilado, ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorporan durante la síntesis de proteína. La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina surgen a partir de pro-

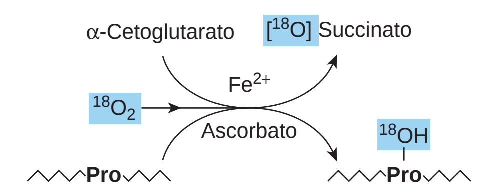


FIGURA 27-11 La reacción de la prolil hidroxilasa. El sustrato es un péptido rico en prolina. En el transcurso de la reacción, el oxígeno molecular se incorpora tanto hacia succinato como hacia prolina. La lisil hidroxilasa cataliza una reacción análoga.

$$H-Se-CH_2-\underset{NH_3^+}{\overset{H}{C}}-COO^-$$

$$Se + ATP \longrightarrow AMP + P_i + H-Se-\underset{O^-}{\overset{O}{\overset{\|}{P}}}-O^-$$

FIGURA 27-12 Selenocisteína **(arriba)** y la reacción catalizada por la selenofosfato sintetasa **(abajo)**.

lina y lisina, pero sólo después de que estos aminoácidos se han incorporado a péptidos. La hidroxilación de residuos peptidil prolilo y lisilo, catalizada por la **prolil hidroxilasa** y la **lisil hidroxilasa** de la piel, el músculo estriado y heridas en granulación necesita, además del sustrato, O_2 molecular, ascorbato, Fe^{2+} y α-cetoglutarato (fig. 27-11). Por cada mol de prolina o lisina hidroxilado, un mol de α-cetoglutarato se descarboxila hacia succinato. Las hidroxilasas son oxigenasas de función mixta. Un átomo de O_2 se incorpora hacia prolina o lisina, y el otro hacia succinato (fig. 27-11). Una deficiencia de la vitamina C necesaria para estas hidroxilasas produce **escorbuto.**

Valina, leucina e isoleucina

Aunque éstos son aminoácidos esenciales desde el punto de vista nutricional, las aminotransferasas hísticas interconvierten de manera reversible los tres aminoácidos y sus α-cetoácidos correspondientes. De este modo, estos α-cetoácidos pueden remplazar sus aminoácidos en la dieta.

Selenocisteína, el vigésimo primer aminoácido

Aun cuando rara vez se encuentra en proteínas, la selenocisteína (fig. 27-12) está presente en el sitio activo de varias enzimas del ser humano que catalizan reacciones de redox. Los ejemplos son tiorredoxina reductasa, glutatión peroxidasa, y la desyodasa que convierte la tiroxina en triyodotironina. Cuando está presente, la selenocisteína participa en el mecanismo catalítico de estas enzimas. Un aspecto importante es que el remplazo de selenocisteína por cisteína puede disminuir de manera significativa la actividad catalítica. Los deterioros de las selenoproteínas de ser humano se han implicado en la tumorigénesis y la aterosclerosis, y se relacionan con cardiomiopatía por deficiencia de selenio (enfermedad de Keshan).

La biosíntesis de selenocisteína requiere cisteína, selenato (SeO_4^{2-}), ATP, un tRNA específico y varias enzimas. La serina proporciona el esqueleto de carbono de la selenocisteína. El selenofosfato, que se forma a partir de ATP y selenato (fig. 27-12), sirve como el donador de selenio. Al contrario de la hidroxiprolina o la hidroxilisina, la selenocisteína surge de modo cotraduccional en el transcurso de su incorporación hacia péptidos. El anticodón UGA del tRNA poco común designado $tRNA^{Sec}$ por lo normal es señalado como STOP (codón de terminación o sin sentido). La capacidad del aparato sintético de proteína para identificar un codón UGA específico para selenocisteína involucra el elemento de inserción de selenocisteína, una estructura en tallo-asa en la región no traducida del mRNA. La selenocisteína-$tRNA^{Sec}$ se carga primero con serina por la ligasa que carga al $tRNA^{Ser}$. El remplazo subsiguiente del oxígeno serina por selenio comprende selenofosfato formado por la selenofosfato sintasa (fig. 27-12). Reacciones catalizadas por enzimas sucesivas convierten a la cisteil-$tRNA^{Sec}$ en aminoacril-$tRNA^{Sec}$ y luego en selenocisteil- $tRNA^{Sec}$. En presencia de un factor de alargamiento específico que reconoce a la selenocisteil-$tRNA^{Sec}$, la selenocisteína a continuación se puede incorporar en proteínas.

RESUMEN

- Todos los vertebrados pueden formar ciertos aminoácidos a partir de intermediarios an bólicos o de otros aminoácidos en la dieta. Los intermediarios y los aminoácidos a los cuales dan lugar son α-cetoglutarato (Glu, Gln, Pro, Hip), oxaloacetato (Asp, Asn) y 3-fosfoglicerato (Ser, Gli).
- La cisteína, tirosina e hidroxilisina se forman a partir de aminoácidos esenciales en el aspecto nutricional. La serina proporciona el esqueleto de carbono, y la homocisteína el azufre para la biosíntesis de cisteína. La fenilalanina hidroxilasa convierte a la fenilalanina en tirosina en una reacción irreversible.
- Ni la hidroxiprolina ni la hidroxilisina de la dieta se incorporan hacia proteínas porque ningún codón o tRNA dicta su inserción hacia péptidos.
- La peptidil hidroxiprolina e hidroxilisina se forman mediante hidroxilación de peptidil prolina o lisina en reacciones catalizadas por oxidasas de función mixta que necesitan vitamina C como cofactor. La enfermedad nutricional escorbuto re eja hidroxilación alterada debido a de ciencia de vitamina C.
- La selenocisteína, un residuo del sitio activo esencial en varias enzimas de mamífero, surge por inserción cotraduccional desde un tRNA previamente modi cado.

REFERENCIAS

Beckett GJ, Arthur JR: Selenium and endocrine systems. J Endocrinol 2005;184:455.

Brown KM, Arthur JR: Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutr 2001;4:593.

Kilberg MS: Asparagine synthetase chemotherapy. Annu Rev Biochem 2006;75:629.

Kohrl J et al: Selenium in biology: facts and medical perspectives. Biol Chem 2000;381:849.

Lobanov AV, Hatfield DL, Gladyshev VN: Reduced reliance on the trace element selenium during evolution of mammals. Genome Biol 2008;9:R62.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Stickel F et al: Role of nutrition in liver transplantation for end-stage chronic liver disease. Nutr Rev 2008;66:47.

CAPÍTULO

28

Catabolismo de proteínas y de nitrógeno de aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se describe de qué modo el nitrógeno de aminoácidos se convierte en urea y los raros trastornos metabólicos que acompañan a los defectos de la biosíntesis de urea. En adultos normales, la ingestión de nitrógeno es igual al nitrógeno excretado. El balance positivo de nitrógeno, un exceso de nitrógeno ingerido sobre el que se excreta, acompaña al crecimiento y al embarazo. El balance negativo de nitrógeno, en el cual el gasto excede a la ingestión, puede observarse después de una intervención quirúrgica, así como en el cáncer avanzado, el kwashiorkor y el marasmo. El amoniaco, derivado principalmente del nitrógeno α-amino de aminoácidos, es muy tóxico. En consecuencia, los tejidos convierten el amoniaco en el nitrógeno amida del aminoácido no tóxico glutamina. La desaminación subsiguiente de la glutamina en el hígado libera amoniaco, que luego se convierte en urea, que es no tóxica. Si la función del hígado está alterada, como en la cirrosis o la hepatitis, las concentraciones sanguíneas altas de amonio generan signos y síntomas clínicos. Cada enzima del ciclo de la urea proporciona ejemplos de defectos metabólicos y sus consecuencias fisiológicas, y el ciclo en conjunto sirve como un modelo molecular para el estudio de defectos metabólicos en seres humanos.

EL RECAMBIO DE PROTEÍNA OCURRE EN TODAS LAS FORMAS DE VIDA

La degradación y síntesis continuas de proteínas celulares suceden en todas las formas de vida. Cada día hay recambio de 1 a 2% de la proteína corporal total de seres humanos, principalmente proteína muscular. Los tejidos que están pasando por reordenamiento estructural, por ejemplo, el tejido del útero en el transcurso de la gestación, el músculo estriado en la inanición, y el tejido de la cola del renacuajo durante la metamorfosis, tienen índices altos de degradación de proteína. De los aminoácidos liberados, alrededor de 75% se reutiliza. Dado que los aminoácidos libres excesivos no se almacenan, los que no se incorporan de inmediato hacia nueva proteína se degradan con rapidez. La principal porción de los esqueletos de carbono de los aminoácidos se convierte en intermediarios anfibólicos, mientras que el nitrógeno amino se convierte en urea y se excreta en la orina.

PROTEASAS Y PEPTIDASAS DEGRADAN PROTEÍNAS HACIA AMINOÁCIDOS

La susceptibilidad relativa de una proteína a degradación se expresa como su vida media ($t_{½}$), el tiempo necesario para disminuir sus cifras a la mitad del valor inicial. La vida media de las proteínas del hígado varía desde menos de 30 min hasta más de 150 h. Las enzimas "normalizadoras" o "caseras" ("house keeping") típicas tienen valores de $t_{½}$ de más de 100 h. En contraste, muchas enzimas reguladoras clave tienen valores de $t_{½}$ de apenas 0.5 a 2 h. Las secuencias PEST, regiones ricas en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), establecen a algunas proteínas como objetivos para degradación rápida. Las proteasas intracelulares hidrolizan enlaces peptídicos internos. Los péptidos resultantes a continuación se degradan hacia aminoácidos por medio de endopeptidasas que dividen enlaces peptídicos internos, y mediante aminopeptidasas y carboxipeptidasas que eliminan aminoácidos de manera secuencial desde las terminales amino y carboxilo, respectivamente. Los péptidos circulantes, como las hormonas, se degradan después de la pérdida de una porción ácido siálico de los extremos no reductores de sus cadenas de oligosacárido. Los receptores de asialoglucoproteína de las células hepáticas internalizan las asialoglucoproteínas, y las proteasas lisosómicas denominadas catepsinas las degradan.

Las proteínas extracelulares, relacionadas con membrana, e intracelulares de vida prolongada se degradan en lisosomas por medio de procesos independientes de ATP. En contraste, las proteínas reguladoras que tienen vida media breve, y las proteínas anormales o plegadas de modo erróneo, se degradan en el citosol, lo cual requiere ATP y ubiquitina. La **ubiquitina,** así llamada porque está presente en todas las células eucarióticas, es un polipéptido pequeño (8.5 kDa,76 residuos) que establece a muchas proteínas intracelulares como blanco para degradación. La estructura primaria de la ubiquitina está muy conservada. Sólo 3 de 76 residuos difieren entre la ubiquitina de levaduras y la de seres humanos. Las moléculas de ubiquitina están fijas mediante **enlaces no α-peptídicos** que se forman entre el carboxilo terminal de la ubiquitina y los grupos α-amino de residuos lisilo en la proteína blanco (fig. 28-1). El residuo presente en su amino terminal influye sobre el hecho de si una proteína es ubiquitinada. El amino terminal Met o Ser retarda la ubiquitinación, mientras que Asp o Arg la acelera. La fijación de una molécula de ubiquitina única a proteínas transmembrana altera su localización subcelular y las establece como objetivos para degradación. Las proteínas solubles pasan por poliubiquitinación, la fijación, catalizada por ligasa, de cuatro o más moléculas de ubiquitina adicionales. La degradación subsiguiente de proteínas marcadas con ubiquitina tiene lugar en el **proteasoma,** una macromolécula con múltiples subunidades diferentes que también está omnipresente en células eucarióticas. En 2004, Aaron Ciechanover y Avram Hershko, de Israel, e Irwin Rose, de EUA, recibieron el premio Nobel en química por el descubrimiento de la degradación de

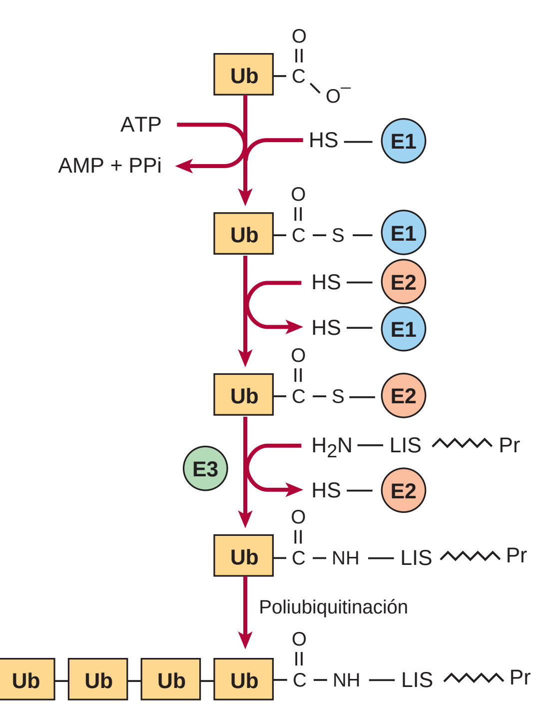


FIGURA 28-1 Reacciones comprendidas en la fijación de ubiquitina (Ub) a proteínas. Tres enzimas están involucradas. La E1 es una enzima activadora, E2 es una ligasa, y E3 es una transferasa. Si bien se describen como entidades únicas, hay varios tipos de E1, y más de 500 de E2. El COOH terminal de la ubiquitina primero forma un tioéster. La hidrólisis acoplada de PP_i por la pirofosfatasa asegura que la reacción procederá con facilidad. Una reacción de intercambio de tioéster ahora transfiere la ubiquitina activada a E2. Después E3 cataliza la transferencia de ubiquitina hacia el grupo ϵ-amino de un residuo lisilo de la proteína blanco. Rondas adicionales de ubiquitinación originan poliubiquitinación subsiguiente.

proteína mediada por ubiquitina. Las enfermedades metabólicas relacionadas con defectos de la ubiquitinación incluyen los síndromes de Angelman y de von Hippel-Lindau, en el cual hay un defecto en la ubiquitina E3 ligasa. En el capítulo 4 se presentan aspectos adicionales de la degradación y ubiquitinación de proteína, incluso su función en el ciclo celular.

EL INTERCAMBIO INTERÓRGANO MANTIENE LAS CONCENTRACIONES CIRCULANTES DE AMINOÁCIDOS

El mantenimiento de cifras de estado estable de aminoácidos que circulan en el plasma entre las comidas depende del balance neto entre la liberación desde reservas de proteína endógenas y la utilización por diversos tejidos. El músculo genera más de la mitad del fondo común corporal total de aminoácidos libres, y el hígado es el sitio de las enzimas del ciclo de la urea necesarias para la eliminación del nitrógeno excesivo. Así, el músculo y el hígado desempeñan funciones importantes en el mantenimiento de las concentraciones de aminoácidos en la circulación.

En la figura 28-2 se resume el estado posterior a la absorción. Los aminoácidos libres, en especial alanina y glutamina, se liberan desde el músculo hacia la circulación. La alanina, que parece ser el vehículo de transporte de nitrógeno en el plasma, se extrae principalmente en el hígado. La glutamina se extrae en el intestino y los riñones, y ambos convierten una porción importante en alanina. La glutamina también sirve como una fuente de amoniaco para excreción por los riñones. Estos últimos proporcionan una fuente importante de serina para captación por tejidos periféricos, incluso hígado y músculo. Los aminoácidos de cadena ramificada, en particular la valina, son liberados por el músculo y captados de forma predominante por el cerebro.

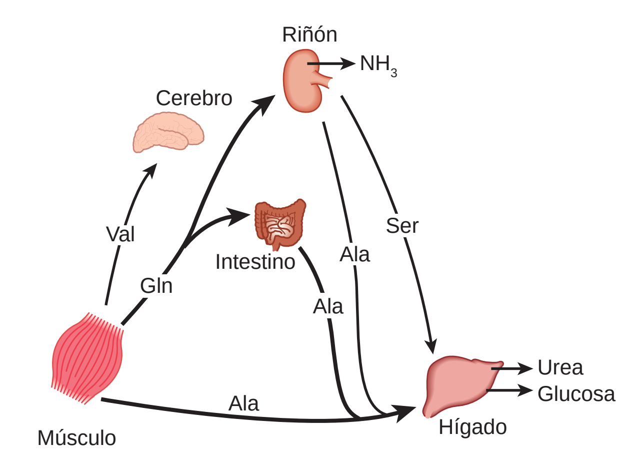


FIGURA 28-2 Intercambio de aminoácidos interórganos en seres humanos normales después de absorción. Se muestran la función clave de la alanina en el gasto de aminoácidos desde el músculo y el intestino, y la captación por el hígado.

La alanina es un **aminoácido gluconeogénico** clave (fig. 28-3). El índice de gluconeogénesis hepática a partir de alanina es mucho más alto que el proveniente de todos los otros aminoácidos. La capacidad del hígado para gluconeogénesis desde alanina no se satura sino hasta que las cifras de alanina alcanzan 20 a 30 veces su concentración fisiológica. Luego de una comida con alto contenido de proteína, los tejidos esplácnicos liberan aminoácidos (fig. 28-4), mientras que los músculos periféricos extraen aminoácidos, en ambos casos de manera predominante aminoácidos de cadena ramificada. De ese modo, éstos desempeñan una función especial en el metabolismo de nitrógeno, tanto en el estado de ayuno, cuando proporcionan una fuente de energía al cerebro, como después de la alimentación, cuando son extraídos predominantemente por los músculos, una vez que han sido preservados por el hígado.

LOS ANIMALES CONVIERTEN EL NITRÓGENO α-AMINO EN PRODUCTOS TERMINALES VARIADOS

Diferentes animales excretan el nitrógeno excesivo como amoniaco, ácido úrico o urea. El ambiente acuoso de peces teleósteos, que son **amonotélicos** (excretan amoniaco), los obliga a excretar agua de manera continua para facilitar la excreción de la molécula muy tóxica amoniaco. Las aves, que deben conservar agua y mantener peso bajo, son **uricotélicas** y excretan ácido úrico como un guano semisólido. Muchos animales terrestres, incluso los seres humanos, son

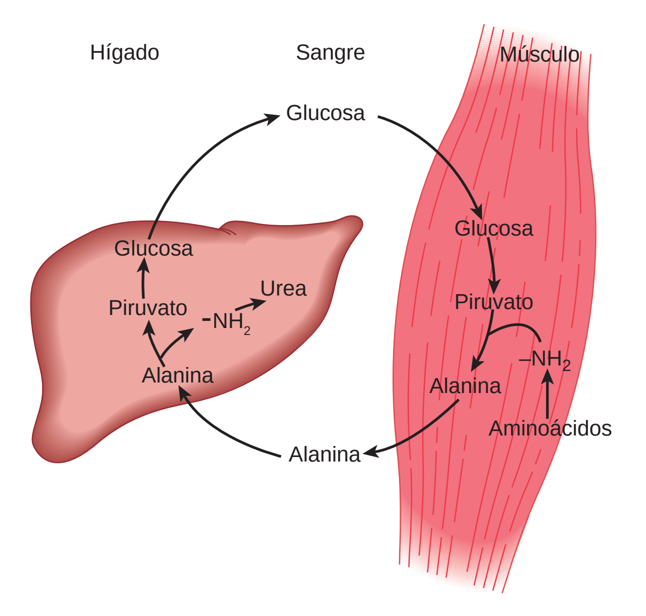


FIGURA 28-3 El ciclo de la glucosa-alanina. La alanina se sintetiza en el músculo mediante transaminación del piruvato derivado de glucosa, se libera hacia el torrente sanguíneo, y el hígado la capta. En este último órgano, el esqueleto de carbono de la alanina se reconvierte en glucosa y se libera hacia el torrente sanguíneo, donde está disponible para captación por el músculo y resíntesis de alanina.

ureotélicos y excretan urea hidrosoluble, no tóxica. Las cifras sanguíneas altas de urea en la nefropatía son una consecuencia, no una causa, de función renal alterada.

BIOSÍNTESIS DE UREA

Ocurre en cuatro etapas: 1) transaminación; 2) desaminación oxidativa de glutamato; 3) transporte de amoniaco, y 4) reacciones del ciclo de la urea (fig. 28-5). El uso de sondas de DNA complementarias ha mostrado que la expresión en el hígado de los RNA que codifican para todas las enzimas del ciclo de la urea aumenta varias veces durante la inanición.

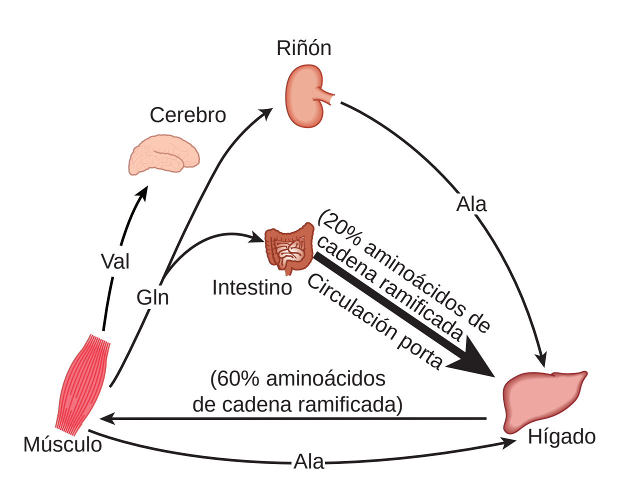


FIGURA 28-4 Resumen del intercambio de aminoácidos entre órganos justo luego de la alimentación.

La transaminación transfiere nitrógeno α-amino hacia α-cetoglutarato, lo que forma glutamato

Las reacciones de transaminación, que interconvierten pares de α-aminoácidos y α-cetoácidos (fig. 28-6), son reversibles con facilidad y funcionan también en la biosíntesis de aminoácidos. De los aminoácidos de proteínas, todos, excepto lisina, treonina, prolina e hidroxiprolina, participan en la transaminación, la cual sucede por medio de un mecanismo de “ping-pong” (fig. 7-4). La coenzima fosfato de piridoxal (PLP) está presente en el sitio catalítico de todas las aminotransferasas (y de muchas otras enzimas que actúan sobre aminoácidos). El PLP, un derivado de la vitamina B_6, forma un intermediario base de Schiff unido a enzima que puede reordenarse de varios modos. Durante la transaminación, el PLP unido a enzima sirve como un acarreador de grupos amino. El reordenamiento forma un α-cetoácido y fosfato de piridoxamina unido a enzima, que luego forma una base de Schiff con un segundo cetoácido. Después de la eliminación de su nitrógeno α-amino mediante transaminación, el “esqueleto” de carbono restante de un aminoácido es degradado por medio de las vías que se comentan en el capítulo 29.

La alanina-piruvato aminotransferasa (alanina aminotransferasa) y la glutamato-α-cetoglutarato aminotransferasa (glutamato aminotransferasa) catalizan la transferencia de grupos amino hacia piruvato (lo que forma alanina) o hacia α-cetoglutarato (lo que forma glutamato) (fig. 28-7). Cada aminotransferasa es específica para un par de sustratos, pero inespecífica para el otro par. Puesto que la

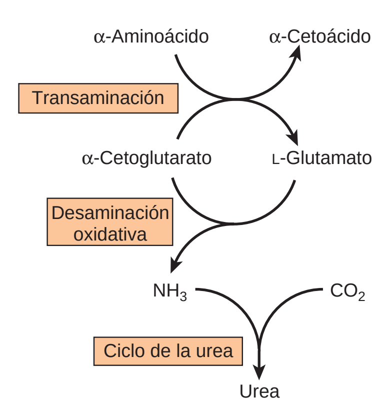


FIGURA 28-5 Flujo general de nitrógeno en el catabolismo de aminoácidos.

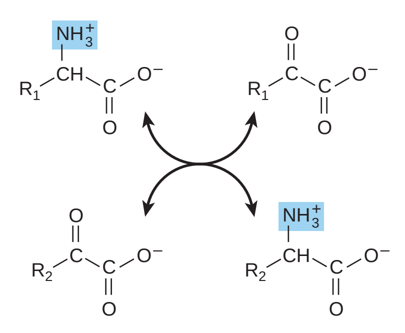


FIGURA 28-6 Transaminación. La reacción es libremente reversible, con una constante de equilibrio cercana a la unidad.

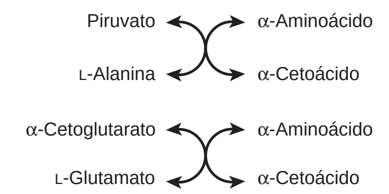


FIGURA 28-7 Alanina aminotransferasa **(arriba)** y glutamato aminotransferasa **(abajo)**.

alanina también es un sustrato para la glutamato aminotransferasa, todo el nitrógeno amino proveniente de aminoácidos que pasa por transaminación puede concentrarse en el glutamato. Esto es importante porque el l-glutamato es el único aminoácido que pasa por desaminación oxidativa a un índice apreciable en tejidos de mamífero. De esta manera, la formación de amoniaco a partir de grupos α-amino ocurre principalmente por medio del nitrógeno α-amino del l-glutamato. La transaminación no se restringe a grupos α-amino. El grupo δ-amino de la ornitina (no así el grupo ϵ-amino de la lisina) pasa con facilidad por transaminación. Las concentraciones séricas altas de aminotransferasas caracterizan a ciertas enfermedades (cuadro 7-2).

LA L-GLUTAMATO DESHIDROGENASA OCUPA UNA POSICIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO DE NITRÓGENO

La transferencia de nitrógeno amino hacia α-cetoglutarato forma l-glutamato. La **l-glutamato deshidrogenasa hepática (GDH),** que puede usar NAD^+ o $NADP^+$, libera este nitrógeno como amoniaco (fig. 28-8). La conversión de nitrógeno α-amino en amoniaco por la acción concertada de la glutamato aminotransferasa y la GDH suele denominarse "transdesaminación". La actividad de GDH en el hígado es inhibida de modo alostérico por ATP, GTP y NADH, y activada por ADP. La reacción de GDH es libremente reversible, y funciona también en la biosíntesis de aminoácidos (fig. 27-1).

Las aminoácido oxidasas también eliminan nitrógeno como amoniaco

Aun cuando su importancia fisiológica es incierta, las l-aminoácido oxidasas del hígado y los riñones convierten un aminoácido en un α-iminoácido que se descompone hacia un α-cetoácido con liberación de ion amonio (fig. 28-9). El oxígeno molecular reoxida a la flavina reducida, lo que forma peróxido de hidrógeno (H_2O_2), al cual luego la **catalasa** divide hacia O_2 y H_2O.

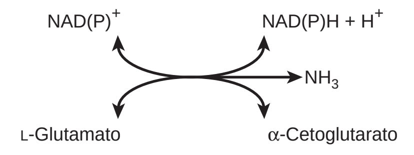


FIGURA 28-8 La reacción de la L-glutamato deshidrogenasa. $NAD(P)^+$ significa que el NAD^+ o el $NADP^+$ puede servir como el oxidorreductor. La reacción es reversible, pero favorece la formación de glutamato.

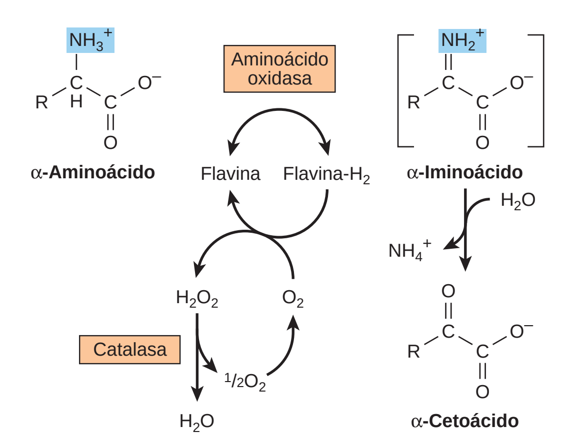


FIGURA 28-9 Desaminación oxidativa catalizada por la L-aminoácido oxidasa (L-α-aminoácido:O_2 oxidorreductasa). El α-iminoácido, que se muestra entre corchetes, no es un intermediario estable.

La intoxicación por amoniaco pone en peligro la vida

El amoniaco producido por las bacterias entéricas y que se absorbe hacia la sangre venosa porta, y el amoniaco producido por los tejidos, se eliminan con rapidez de la circulación por medio del hígado, y se convierten en urea. Así, en circunstancias normales únicamente hay cantidades traza (10 a 20 μg/dL) en la sangre periférica. Esto es esencial, dado que el amoniaco es tóxico para el sistema nervioso central. Cuando la sangre porta no pasa por el hígado, las cifras sanguíneas de amoniaco pueden alcanzar concentraciones tóxicas. Esto sucede en presencia de función hepática gravemente alterada, o cuando se forman enlaces colaterales entre las venas porta y sistémicas en la cirrosis. Los síntomas de **intoxicación por amoniaco** son temblor, lenguaje cercenado, visión borrosa, coma y finalmente la muerte. El amoniaco puede ser tóxico para el cerebro debido en parte a que reacciona con α-cetoglutarato para formar glutamato. El decremento resultante de las cifras de α-cetoglutarato después altera la función del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA) en neuronas.

La glutamina sintetasa fija el amoniaco como glutamina

La **glutamina sintetasa** mitocondrial cataliza la formación de glutamina (fig. 28-10). Puesto que la síntesis de enlace amida está acoplada a la hidrólisis de ATP hacia ADP y P_i, la reacción favorece fuertemente la síntesis de glutamina. Una función clave de esta última es secuestrar amoniaco en una forma no tóxica.

La glutaminasa y asparaginasa desamidan la glutamina y asparagina

La glutamina sintetasa tiene importancia en la destoxificación de amoniaco, el flujo de nitrógeno interórganos, y la homeostasis

FIGURA 28-10 La reacción de la glutamina sintetasa favorece de manera importante la síntesis de glutamina.

FIGURA 28-11 La reacción de glutaminasa procede en esencia de modo irreversible en la dirección de la formación de glutamato y NH_4^+. Note que se elimina el nitrógeno *amida,* no el nitrógeno α-amino.

acidobásica. La liberación hidrolítica del nitrógeno amida de la glutamina como amoniaco, catalizada por la **glutaminasa** (fig. 28-11), favorece con fuerza la formación de glutamato. La l-asparaginasa cataliza una reacción análoga. De esta manera, la acción concertada de la glutamina sintetasa y de la glutaminasa cataliza la interconversión de ion amonio libre y glutamina. Una rara deficiencia de la glutamina sintetasa en recién nacidos da por resultado daño cerebral grave, insuficiencia multiorgánica y muerte.

La formación y secreción de amoniaco mantienen el equilibrio acidobásico

La excreción hacia la orina del amoniaco producido por las células de los túbulos renales facilita la conservación de catión y la regulación del equilibrio acidobásico. La **acidosis metabólica** incrementa la producción de amoniaco a partir de aminoácidos renales intracelulares, en especial glutamina, en tanto que la **alcalosis metabólica** la aminora.

LA UREA ES EL PRINCIPAL PRODUCTO TERMINAL DEL CATABOLISMO DE NITRÓGENO EN SERES HUMANOS

La síntesis de 1 mol de urea necesita 3 mol de ATP más 1 mol, cada uno, de ion amonio y del nitrógeno α-amino del aspartato. Cinco enzimas catalizan las reacciones numeradas de la figura 28-12. De los seis aminoácidos que participan, el *N*-acetilglutamato funciona sólo como un activador de enzima. Los otros funcionan como acarreadores de átomos que, por último, se convierten en urea. La principal función metabólica de la **ornitina**, la **citrulina** y el **argininosuccinato** en mamíferos es la síntesis de urea, que es un proceso cíclico. La ornitina consumida en la reacción 2 se regenera en la reacción 5 y, de este modo, no hay pérdida o ganancia neta de ornitina, citrulina, argininosuccinato o arginina. Sin embargo, hay consumo de ion amonio, CO_2, ATP y aspartato. Algunas reacciones de la síntesis de urea ocurren en la matriz de la mitocondria y otras en el citosol (fig. 28-12).

La carbamoil fosfato sintetasa I inicia la biosíntesis de urea

La **carbamoil fosfato sintetasa I** mitocondrial cataliza la condensación de CO_2, amoniaco y ATP para formar **carbamoil fosfato**. Una forma citosólica de esta enzima, la carbamoil fosfato sintetasa II, usa glutamina en lugar de amoniaco como el donador de nitrógeno, y funciona en la biosíntesis de pirimidina (cap. 33). Así, la acción concertada de la GDH y de la carbamoil fosfato sintetasa I, transporta nitrógeno amino hacia el carbamoil fosfato, un compuesto con un alto potencial de transferencia de grupo.

La carbamoil fosfato sintetasa I, la enzima limitante del ciclo de la urea, sólo es activa en presencia de ***N*-acetilglutamato,** un activador alostérico que aumenta la afinidad de la sintetasa por ATP. La síntesis de 1 mol de carbamoil fosfato requiere 2 mol de ATP. Un ATP sirve como donador del fosforilo para la formación del enlace anhídrido ácido mixto del carbamoil fosfato. El segundo ATP proporciona la fuerza impulsora para la síntesis del enlace amida del carbamoil fosfato. Los otros productos son 2 mol de ADP y 1 mol de P_i (reacción 1, fig. 28-12). La reacción procede por pasos. La reacción de bicarbonato con ATP forma carbonil fosfato y ADP. A continuación el amoniaco desplaza al ADP, lo que forma carbamato y ortofosfato. La fosforilación de carbamato por el segundo ATP forma entonces carbamoil fosfato.

El carbamoil fosfato más ornitina forma citrulina

La **l-ornitina transcarbamoilasa** cataliza la transferencia del grupo carbamoilo del carbamoil fosfato hacia ornitina, lo que forma citrulina y ortofosfato (reacción 2, fig. 28-12). Si bien la reacción sucede en la matriz mitocondrial, tanto la formación de ornitina como el metabolismo subsiguiente de citrulina tienen lugar en el citosol. Por ende, la entrada de ornitina hacia las mitocondrias, y el éxodo de citrulina desde estas últimas, comprenden sistemas de transporte de membrana interna mitocondrial (fig. 28-12).

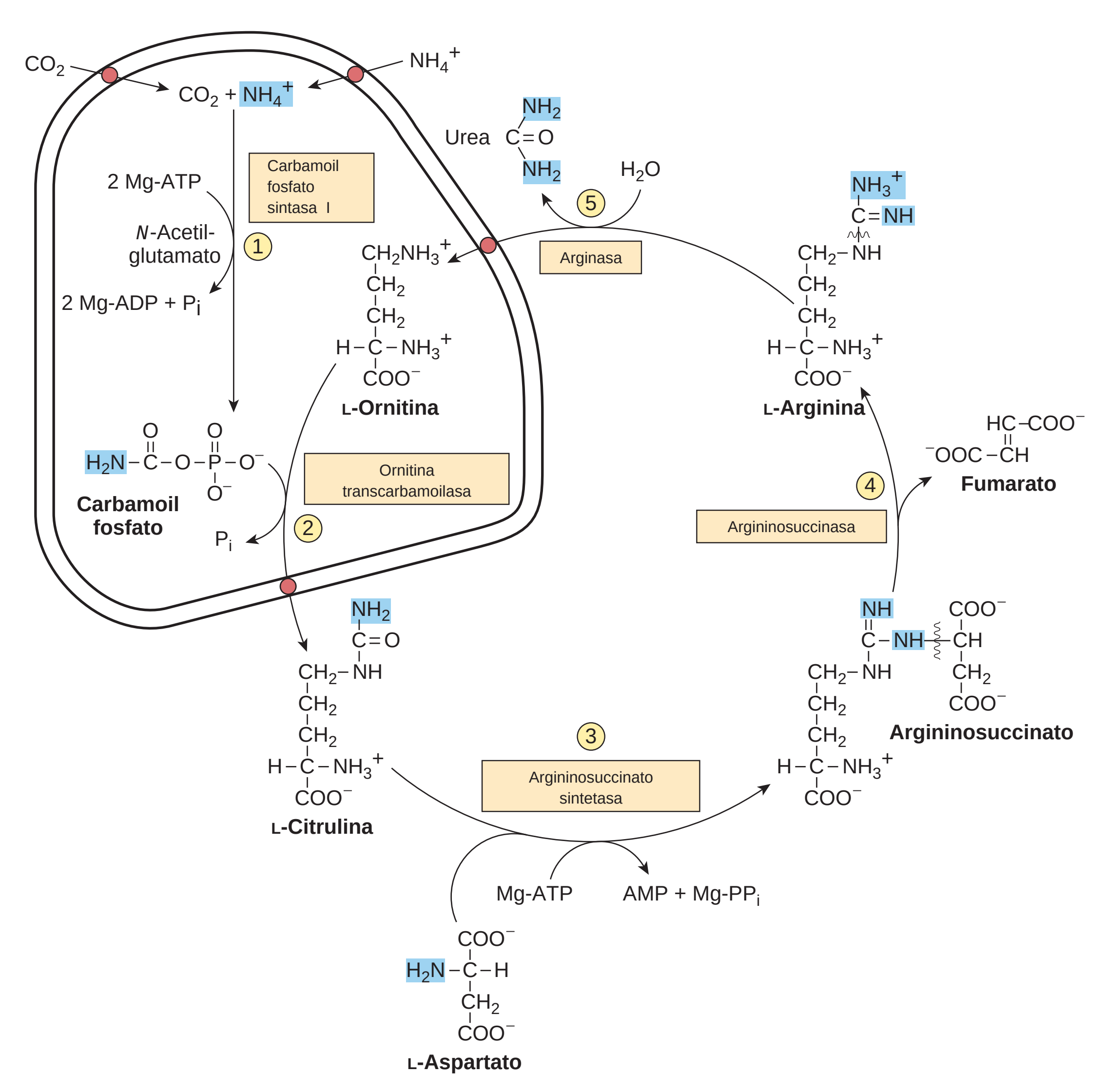


FIGURA 28-12 Reacciones e intermediarios de la biosíntesis de la urea. Los grupos que contienen nitrógeno que contribuyen a la formación de urea están sombreados. Las reacciones y ocurren en la matriz de las mitocondrias hepáticas, y las reacciones , y , en el citosol hepático. El CO_2 (como bicarbonato), el ion amonio, la ornitina y la citrulina entran a la matriz mitocondrial por medio de acarreadores específicos (véanse los puntos de color rojo) presentes en la membrana interna de las mitocondrias del hígado.

La citrulina más aspartato forman argininosuccinato

La **argininosuccinato sintetasa** enlaza aspartato y citrulina mediante el grupo amino del aspartato (reacción 3, fig. 28-12), y proporciona el segundo nitrógeno de la urea. La reacción necesita ATP e incluye la formación intermedia de citrulil-AMP. El desplazamiento subsiguiente de AMP por aspartato a continuación forma argininosuccinato.

La división de argininosuccinato forma arginina y fumarato

La división del argininosuccinato, catalizada por la **argininosuccinasa,** procede con retención de nitrógeno en la arginina, y liberación del esqueleto aspartato como fumarato (reacción 4, fig. 28-12). La adición de agua a fumarato forma l-malato, cuya oxidación dependiente de NAD^+ subsiguiente lo convierte en oxaloacetato. Estas dos reacciones son análogas a las reacciones del ciclo del ácido cítrico (fig. 17-3), pero son catalizadas por **la fumarasa y la malato deshidrogenasa *citosólicas.*** La transaminación de oxaloacetato por la glutamato aminotransferasa a continuación vuelve a formar aspartato. De esta manera, el esqueleto de carbono del aspartato-fumarato actúa como un acarreador del nitrógeno de glutamato hacia un precursor de urea.

La división de arginina libera urea y vuelve a formar ornitina

La división hidrolítica del grupo guanidino de la arginina, catalizada por la **arginasa** hepática, libera urea (reacción 5, fig. 28-12). El otro producto, la ornitina, vuelve a entrar a las mitocondrias hepáticas, y

participa en rondas adicionales de síntesis de urea. La ornitina y la lisina son potentes inhibidores de la arginasa, y compiten con la arginina. Esta última también funciona como un precursor del potente relajante muscular óxido nítrico (NO) en una reacción dependiente de Ca^{2+} catalizada por la NO sintasa (fig. 48-12).

La carbamoil fosfato sintetasa I es la enzima marcapasos del ciclo de la urea

La actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I está determinada por el *N*-acetilglutamato, cuya concentración de estado estable está dictada por su índice de síntesis a partir de acetil-CoA y glutamato, y su índice de hidrólisis hacia acetato y glutamato. Estas reacciones son catalizadas por la *N*-acetilglutamato sintasa y la *N*-acetilglutamato hidrolasa, respectivamente. Los cambios importantes en la dieta pueden incrementar 10 a 20 veces las cifras de enzimas individuales del ciclo de la urea. Por ejemplo, la inanición aumenta las concentraciones de enzimas, probablemente para afrontar el incremento de la producción de amoniaco que acompaña a la degradación aumentada de proteína inducida por inanición.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS TRASTORNOS METABÓLICOS

Los trastornos metabólicos comparativamente raros, pero devastadores desde el punto de vista médico, relacionados con las enzimas de la biosíntesis de la urea, ilustran los siguientes principios generales de las enfermedades metabólicas:

1. Signos y síntomas clínicos similares o idénticos pueden caracterizar a cualquier número de diferentes defectos en el ámbito molecular en una enzima dada.
2. La terapia racional debe basarse en un entendimiento de las reacciones catalizadas por enzimas bioquímicas importantes en sujetos tanto normales como alterados.
3. La identificación de intermediarios y de productos auxiliares que se acumulan antes de un bloqueo metabólico proporciona la base para las pruebas para detectar trastornos metabólicos, y pueden indicar la reacción que está alterada.
4. El diagnóstico preciso requiere evaluación cuantitativa de la actividad de la enzima que se sospecha que es defectuosa.
5. La secuencia de DNA del gen que codifica para una enzima mutante dada se compara con la del gen tipo natural para identificar la o las mutaciones específicas que originan la enfermedad.

HAY TRASTORNOS METABÓLICOS RELACIONADOS CON CADA REACCIÓN DEL CICLO DE LA UREA

Se han descrito defectos en cada enzima del ciclo de la urea. Muchas de las mutaciones causales han sido “mapeadas” e identificado defectos específicos en las enzimas codificadas. Cinco enfermedades bien documentadas representan defectos de la biosíntesis de enzimas del ciclo de la urea. El análisis genético molecular ha identificado con exactitud los *loci* de mutaciones relacionadas con cada deficiencia, cada uno de los cuales muestra considerable variabilidad genética y fenotípica.

Los trastornos del ciclo de la urea se caracterizan por hiperamonemia, encefalopatía y alcalosis respiratoria. Cuatro de las cinco enfermedades metabólicas, deficiencias de carbamoil fosfato sintetasa, ornitina transcarbamilasa, argininosuccinato sintetasa, y argininosuccinato liasa, suscitan la acumulación de precursores de urea, en especial amoniaco y glutamina. La intoxicación por amoniaco es más grave cuando el bloqueo metabólico ocurre en las reacciones 1 o 2 (fig. 28-12), porque si puede sintetizarse citrulina, algo de amoniaco ya se ha eliminado al enlazarse de modo covalente a un metabolito orgánico. Los síntomas clínicos comunes a todos los trastornos del ciclo de la urea comprenden vómito, evitación de alimentos con alto contenido de proteína, ataxia intermitente, irritabilidad, letargo y retraso mental grave. La presentación clínica más notoria sucede en lactantes a término que en un inicio parecen normales pero luego muestran letargo progresivo, hipotermia y apnea debido a las cifras plasmáticas altas de amoniaco. Los datos clínicos y el tratamiento de los cinco trastornos son similares. Una dieta hipoproteínica ingerida como comidas frecuentes pequeñas con el fin de evitar incrementos repentinos de las concentraciones sanguíneas de amoniaco puede ir acompañada de mejoría y minimización del daño cerebral significativas. El objetivo de la dietoterapia es proporcionar suficiente proteína, arginina y energía para promover el crecimiento y desarrollo, mientras que al mismo tiempo se minimizan las perturbaciones metabólicas relacionadas con estas enfermedades.

Carbamoil fosfato sintetasa I

El *N*-acetilglutamato es esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I (reacción 1, fig. 28-12). Los defectos de esta enzima producen la enfermedad metabólica relativamente rara (frecuencia estimada, 1:62 000) denominada “hiperamonemia tipo 1”.

N-acetilglutamato sintasa (NAGS)

Cataliza la formación, a partir de acetil-CoA y glutamato, del *N*-acetilglutamato esencial para la actividad de la carbamoil fosfato sintetasa I.

L-Glutamato + Acetil-CoA → *N*-acetil- L-glutamato + CoASH

Aunque las características clínicas y bioquímicas de la deficiencia de NAGS son indistinguibles de las que surgen por un defecto de la fosfato sintetasa I, una deficiencia de NAGS puede mostrar respuesta al *N*-acetilglutamato administrado.

El transportador de ornitina

La hiperornitinemia, la hiperamonemia y el síndrome de homocitrulinuria **(síndrome HHH)** se producen por mutación del gen ORNT1 que codifica para el transportador de ornitina de la membrana mitocondrial. El fracaso para importar ornitina citosólica hacia la matriz mitocondrial hace inoperable al ciclo de la urea, con hiperamonemia consiguiente, e hiperornitinemia debida a la acumulación acompañante de ornitina citosólica.

En ausencia de su aceptor normal ornitina, el carbamoil fosfato mitocondrial carbamoila la lisina hacia homocitrulina, lo que ocasiona homocitrulinuria.

Ornitina transcarbamoilasa

La deficiencia enlazada al cromosoma X llamada “hiperamonemia tipo 2” refleja un defecto de la ornitina transcarbamoilasa (reacción 2, fig. 28-12). Las madres también muestran hiperamonemia, y aversión a los alimentos hiperproteínicos. Las cifras de glutamina están altas en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, probablemente como resultado de aumento de la síntesis de glutamina en respuesta a concentraciones altas de amoniaco hístico.

Argininosuccinato sintetasa

Además de los enfermos que carecen de actividad detectable de esta enzima (reacción 3, fig. 28-12), se ha informado un incremento de 25 veces de la K_m para citrulina. En la citrulinemia resultante, las cifras de citrulina en el plasma y el líquido cefalorraquídeo están altas, y se excretan 1 a 2 g de citrulina a diario.

Argininosuccinasa (argininosuccinato liasa)

La argininosuccinicaciduria, acompañada de concentraciones altas de argininosuccinato en la sangre, el líquido cefalorraquídeo y la orina, se relaciona con pelo friable y deshilachado en el extremo (tricorrexis nodosa). Se conocen tipos de inicio tanto temprano como tardío. El defecto metabólico yace en la argininosuccinasa (argininosuccinato liasa; reacción 4, fig. 28-12). El diagnóstico basado en la medición de la actividad de argininosuccinasa en los eritrocitos puede efectuarse en sangre de cordón umbilical o en células de líquido amniótico.

Arginasa

La hiperargininemia es un defecto autosómico recesivo en el gen que codifica para la arginasa (reacción 5, fig. 28-12). Al contrario de otros trastornos del ciclo de la urea, los primeros síntomas de hiperargininemia típicamente no aparecen sino hasta los 2 a 4 años de edad. Las cifras de arginina en la sangre y el líquido cefalorraquídeo están altas. El modelo de aminoácidos urinario, que semeja el de la lisina-cistinuria, quizá refleje competencia por la arginina con lisina y cisteína para resorción en el túbulo renal.

El análisis de sangre del recién nacido mediante espectrometría de masa en tándem puede detectar enfermedades metabólicas

Las enfermedades metabólicas dependientes de falta o deterioro funcional de enzimas metabólicas pueden ser devastadoras. Empero, la intervención temprana respecto a la dieta casi siempre puede disminuir los efectos ominosos que de otra manera son inevitables. De este modo, la detección temprana de esas enfermedades metabólicas tiene importancia primaria. Desde que en EUA iniciaron los programas de detección durante el decenio de 1960-1969, en todos los Estados de ese país ahora se llevan a cabo pruebas de detección de enfermedades metabólicas en recién nacidos, aun cuando el alcance de las pruebas de detección empleadas varía entre uno y otro. La poderosa y sensible técnica de **espectrometría de masa en tándem** (cap. 4) puede detectar en algunos minutos más de 40 analitos de importancia en la detección de trastornos metabólicos. En casi todo el territorio estadounidense se emplea la MS (espectometría de masa) en tándem para investigar a recién nacidos con el objeto de detectar trastornos metabólicos, como acidemias orgánicas, aminoacidemias, trastornos de la oxidación de ácidos grasos, y defectos de las enzimas del ciclo de la urea. Con todo, persisten diferencias importantes de la cobertura de analitos entre los estados. En un artículo reciente se revisa la teoría de la MS en tándem, su aplicación a la detección de trastornos metabólicos, y situaciones que pueden dar resultados positivos falsos. También incluye un cuadro grande de analitos detectables, y las enfermedades metabólicas importantes (véase *Clinical Chemistry* 39, 315-332, 2006).

¿La terapia génica resulta promisoria para corregir defectos de la biosíntesis de la urea?

La terapia génica de defectos de las enzimas del ciclo de la urea es un área de investigación activa. Resultados preliminares estimulantes en modelos en animales, por ejemplo, el uso de un vector adenoviral para tratar citrulinemia, sugieren potencial, pero en la actualidad la terapia génica no proporciona una solución eficaz para seres humanos.

RESUMEN

- Los seres humanos degradan 1 a 2% de su proteína corporal a diario, a índices que varían entre las proteínas y con el estado siológico. Las enzimas reguladoras clave a menudo tienen vida media breve.
- Las proteínas se degradan por medio de vías tanto dependientes como independientes, de ATP. La ubiquitina establece como objetivo muchas proteínas intracelulares para degradación. Los receptores de super cie celular hepáticos se unen a asialoglucoproteínas circulantes destinadas para degradación lisosómica, y las internalizan.
- Los peces excretan de manera directa el altamente tóxico NH_3. Las aves convierten el NH_3 en ácido úrico. Los vertebrados superiores convierten el NH_3 en urea.
- La transaminación canaliza el nitrógeno de aminoácidos hacia glutamato. La L-glutamato deshidrogenasa (GDH) ocupa una posición fundamental en el metabolismo del nitrógeno.
- La glutamina sintetasa convierte el NH_3 en glutamina no tóxica. La glutamina libera NH_3 para uso en la síntesis de urea.
- El NH_3, el CO_2 y el nitrógeno amida del aspartato proporcionan los átomos de la urea.
- La síntesis de urea en el hígado tiene lugar en parte en la matriz mitocondrial, y en parte en el citosol.
- Los cambios de las concentraciones de enzima y la regulación alostérica de la carbamoil fosfato sintetasa por *N*-acetilglucosamina regulan la síntesis de la urea.
- Las enfermedades metabólicas se relacionan con defectos en cada enzima del ciclo de la urea, del transportador de ornitina relacionado con membrana, y de la *N*-acetilglutamato sintetasa.

- La MS en tándem es la mejor técnica para efectuar pruebas de detección de enfermedades metabólicas hereditarias en recién nacidos.

REFERENCIAS

Brooks P et al: Subcellular localization of proteasomes and their regulatory complexes in mammalian cells. Biochem J 2000;346:155.

Caldovic L et al: Mutations and polymorphisms in the human *N*-acetylglutamate synthase (NAGS) gene. Hum Mutat 2007;28:754.

Crombez EA, Cederbaum SD: Hyperargininemia due to liver arginase deficiency. Mol Genet Metab 2005;84:243.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Elpeleg O et al: *N*-acetylglutamate synthase deficiency and the treatment of hyperammonemic encephalopathy. Ann Neurol 2002;52:845.

Gyato K et al: Metabolic and neuropsychological phenotype in women heterozygous for ornithine transcarbamylase deficiency. Ann Neurol 2004;55:80.

Haberle J et al: Diagnosis of *N*-acetylglutamate synthase deficiency by use of cultured fibroblasts and avoidance of nonsense-mediated mRNA decay. J Inherit Metab Dis 2003;26:601.

Haberle J et al: Mild citrullinemia in caucasians is an allelic variant of argininosuccinate synthetase deficiency (citrullinemia type 1). Mol Genet Metab 2003;80:302.

Haberle J et al: Congenital glutamine deficiency with glutamine synthetase mutations. N Engl J Med 2005;353:1926.

Iyer R et al: The human arginases and arginase deficiency. J Inherit Metab Dis 1998;21:86.

Pickart CM: Mechanisms underlying ubiquitination. Annu Rev Biochem 2001;70:503.

Scriver CR: Garrod's foresight; our hindsight. J Inherit Metab Dis 2001;24:93.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Yi JJ, Ehlers MD: Emerging roles for ubiquitin and protein degradation in neuronal function. Pharmacol Rev 2007;59:206.

CAPÍTULO

29

Catabolismo de los esqueletos de carbono de aminoácidos

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se comentan la conversión de los esqueletos de carbono de los L-α-aminoácidos comunes en intermediarios anfibólicos, y las enfermedades metabólicas o "errores congénitos del metabolismo" relacionadas con estos procesos. Sin tratamiento, estos trastornos pueden dar por resultado daño cerebral irreversible y muerte temprana. Así, la detección prenatal, o la detección posnatal oportuna, y el inicio oportuno de tratamiento, son esenciales. Muchas de las enzimas afectadas pueden detectarse en células de líquido amniótico en cultivo, lo que facilita el diagnóstico prenatal por medio de amniocentesis. En casi todos los Estados de EUA se efectúan pruebas de detección para hasta 30 enfermedades metabólicas. Estas pruebas incluyen, pero no se limitan a, trastornos que se producen por defectos del catabolismo de aminoácidos. En las mejores pruebas de detección se usa espectrometría de masa en tándem para detectar, en algunas gotas de sangre de recién nacido, catabolitos sugestivos de un defecto metabólico. Aun cuando muchos cambios de la estructura primaria de las enzimas carecen de efectos adversos, otros modifican la estructura tridimensional de sitios catalíticos o reguladores, disminuyen la eficiencia catalítica (producen decremento de la $V_{máx}$ o aumentan la K_m), o alteran la afinidad de un regulador alostérico de la actividad. De este modo, diversas mutaciones pueden dar lugar a los mismos signos y síntomas clínicos. El tratamiento consta sobre todo de suministro de dietas con bajo contenido de los aminoácidos cuyo catabolismo está alterado.

LA TRANSAMINACIÓN TÍPICAMENTE INICIA EL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS

La eliminación del nitrógeno α-amino mediante transaminación (fig. 28-6) es la primera reacción catabólica de los aminoácidos excepto por la prolina, hidroxiprolina, treonina y lisina. El esqueleto de hidrocarburo que persiste, a continuación se degrada hacia intermediarios anfibólicos (fig. 29-1).

Asparagina, aspartato, glutamina y glutamato

Los cuatro carbonos de la asparagina y del aspartato forman **oxaloacetato** (fig. 29-2, arriba). Reacciones análogas convierten a la glutamina y el glutamato en **α-cetoglutarato** (fig. 29-2, abajo). No hay defectos metabólicos relacionados con el catabolismo de estos cuatro aminoácidos.

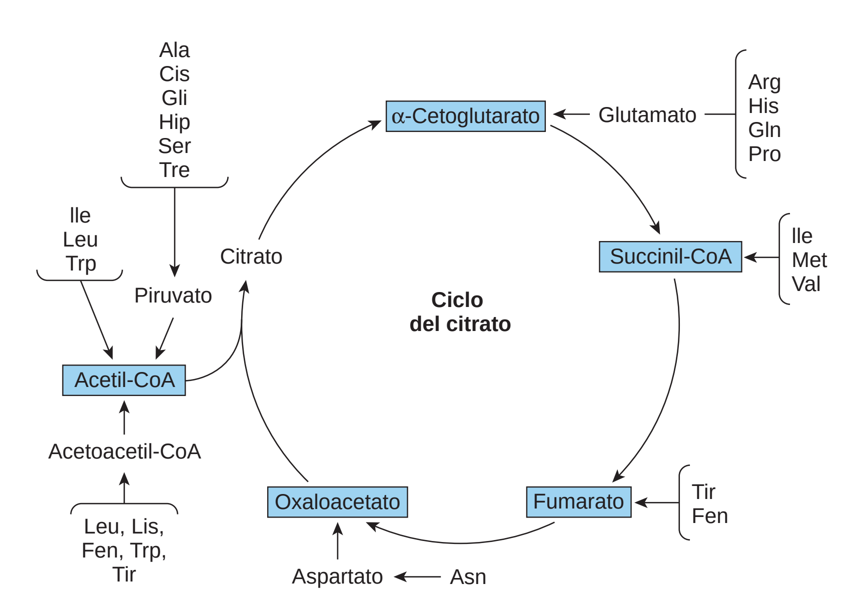


FIGURA 29-1 Intermediarios anfibólicos formados a partir de los esqueletos de carbono de aminoácidos.

H_2O NH_4^+ Asparaginasa PIR ALA Transaminasa

L-Asparagina L-Aspartato Oxaloacetato

H_2O NH_4^+ Glutaminasa PIR ALA Transaminasa

L-Glutamina L-Glutamato α-Cetoglutarato

FIGURA 29-2 Catabolismo de la L-asparagina **(arriba)** y de la L-glutamina **(abajo)** hacia intermediarios anfibólicos. (PIR, piruvato; ALA, L-alanina.) En esta figura y en otras subsiguientes, las porciones de las moléculas que están pasando por cambio químico se marcan con color.

Prolina

El catabolismo de la prolina tiene lugar en las mitocondrias. Dado que la prolina no participa en la transaminación, el nitrógeno de este iminoácido se retiene de principio a fin de su oxidación hacia Δ^1-pirrolina-5-carboxilato, abertura del anillo hacia glutamato-γ-semialdehído, y oxidación hacia glutamato, y sólo se elimina durante la transaminación de glutamato hacia α-cetoglutarato (fig. 29-3). Hay dos trastornos metabólicos del catabolismo de la prolina. Ambos tipos se heredan como rasgos autosómicos recesivos, y son congruentes con una vida adulta normal. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo I** está en la **prolina deshidrogenasa.** No hay

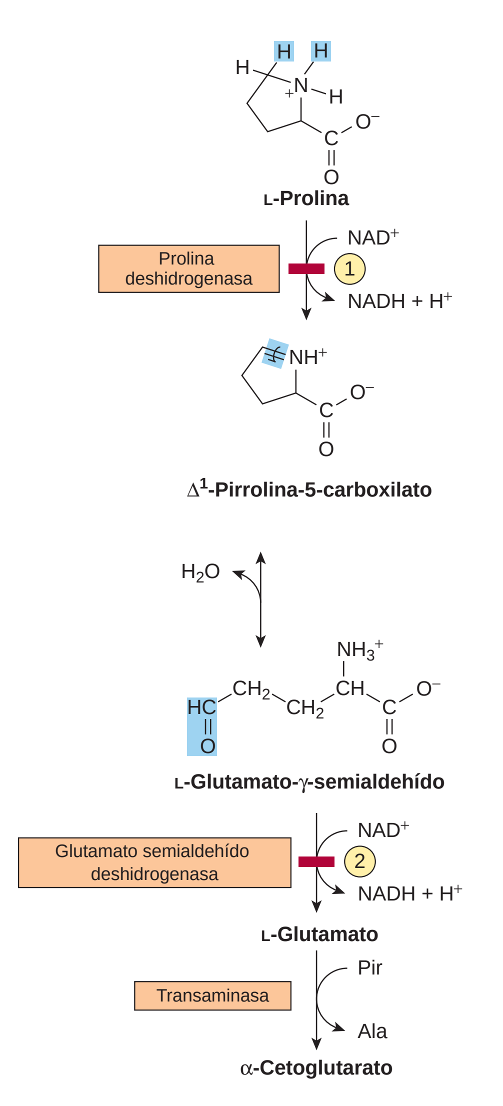


FIGURA 29-3 Catabolismo de la prolina. Los números indican los sitios de defectos metabólicos en las hiperprolinemias tipo I y tipo II.

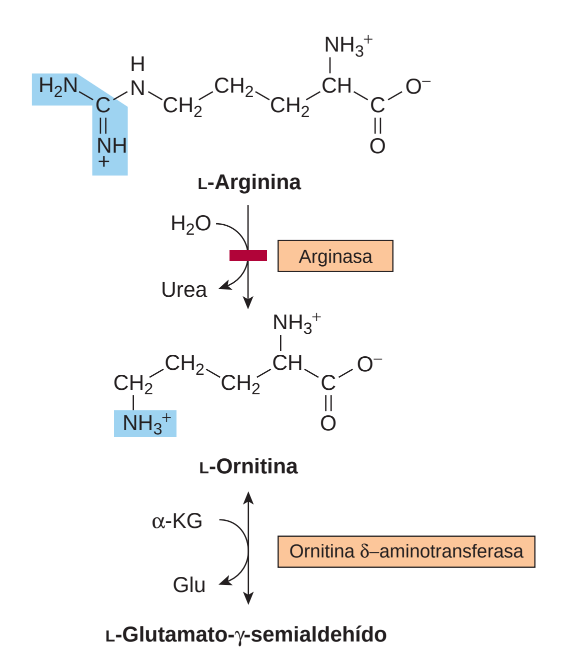


FIGURA 29-4 Catabolismo de la arginina. La división de la L-arginina, catalizada por la arginasa, forma urea y L-ornitina; esta reacción representa el sitio del defecto metabólico en la hiperargininemia. La transaminación subsiguiente de la L-ornitina hacia glutamato-γ-semialdehído va seguida por conversión hacia α-cetoglutarato (fig. 29-3).

deterioro relacionado del catabolismo de la hidroxiprolina. El bloqueo metabólico en la **hiperprolinemia tipo II** está en la **glutamato-γ-semialdehído deshidrogenasa,** enzima que también funciona en el catabolismo de la hidroxiprolina. De esta manera, hay afección del catabolismo tanto de la prolina como de la hidroxiprolina, y se excretan tanto Δ^1-pirrolina-5-carboxilato como Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato (fig. 29-12).

Arginina y ornitina

La arginina se convierte en ornitina y después en el glutamato-γ-semialdehído (fig. 29-4). El catabolismo subsiguiente hacia **α-cetoglutarato** ocurre como se describió para la prolina (fig. 29-3). Las mutaciones de la **ornitina δ-aminotransferasa** incrementan la ornitina plasmática y urinaria, y originan **atrofia girada de la retina.** El tratamiento comprende restricción de la arginina en la dieta. En el **síndrome de hiperornitinemia-hiperamonemia,** un **antiportador de ornitina-citrulina** mitocondrial defectuoso (fig. 28-12), altera el transporte de ornitina hacia las mitocondrias para uso en la síntesis de urea.

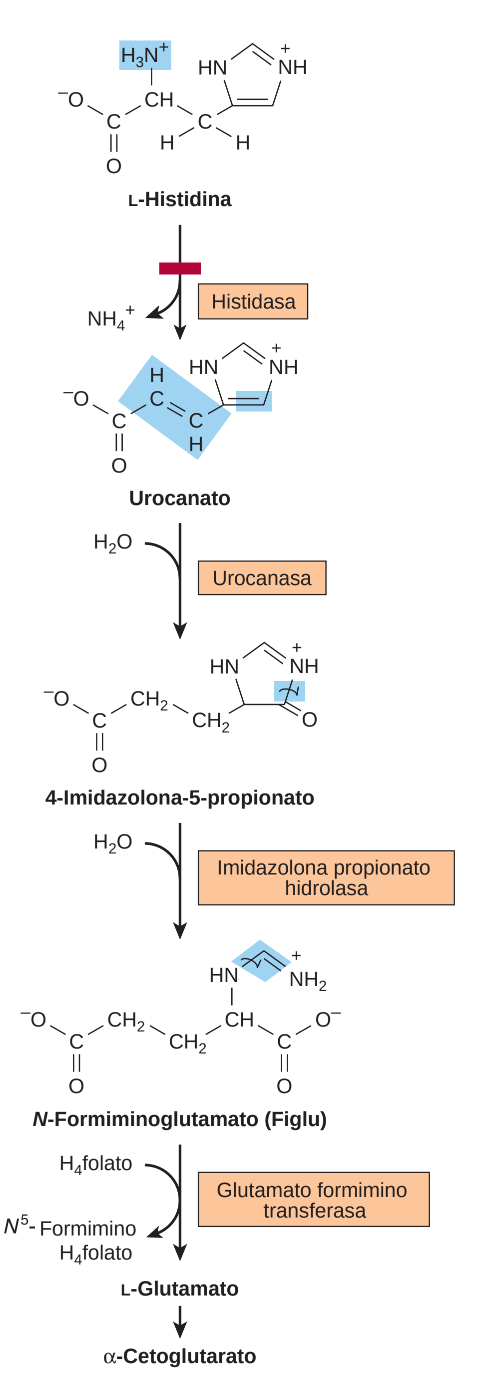


FIGURA 29-5 Catabolismo de L-histidina hacia α-cetoglutarato. (H_4 folato, tetrahidrofolato.) La histidasa es el sitio probable del defecto metabólico en la histidinemia.

Histidina

El catabolismo de la histidina procede mediante el urocanato, 4-imidazolona-5-propionato, y *N*-formiminoglutamato (Figlu). La transferencia del grupo formimino hacia el tetrahidrofolato forma glutamato, y luego **α-cetoglutarato** (fig. 29-5). En la deficiencia de ácido fólico, la transferencia de grupo del grupo formimino está alterada, y se excreta Figlu. Así, la excreción de Figlu después de una dosis de histidina puede usarse para detectar deficiencia de ácido fólico. Los trastornos benignos del catabolismo de la histidina son la **histidinemia** y la **aciduria urocánica** relacionadas con **histidasa** alterada.

CATABOLISMO DE LA GLICINA, SERINA, ALANINA, CISTEÍNA, TREONINA Y 4-HIDROXIPROLINA

Glicina

El **complejo de división de glicina** de las mitocondrias hepáticas divide a la glicina en CO_2 y NH_4^+, y forma N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato.

$$\text{Glicina} + H_4\text{folato} + NAD^+ \rightarrow CO_2 + NH_3 + 5{,}10\text{-}CH_2\text{-}H_4\text{folato} + NADH + H^+$$

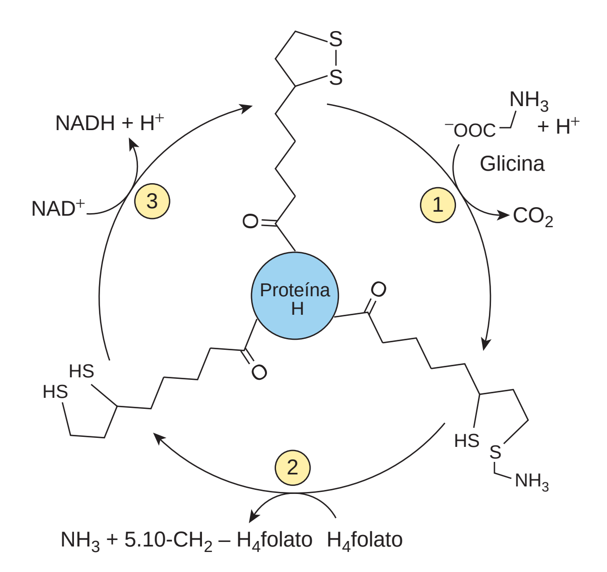


FIGURA 29-6 El sistema de división de glicina de las mitocondrias hepáticas. El complejo consta de tres enzimas y una "proteína H" que tiene dihidrolipoato fijo de modo covalente. Los catalíticos para las reacciones numeradas son ① glicina deshidrogenasa (descarboxilante), ② una aminometiltransferasa formadora de amoniaco, y ③ dihidrolipoamida deshidrogenasa. (H_4 folato, tetrahidrofolato.)

El sistema de división de glicina consta de tres enzimas, y una “proteína H” que tiene una porción dihidrolipoilo fija de modo covalente. La figura 29-6 ilustra las reacciones individuales y los intermediarios en la división de la glicina. En la **hiperglicinemia no cetótica,** un raro error congénito de la degradación de la glicina que hoy sólo se conoce en Finlandia, la glicina se acumula en todos los tejidos corporales, incluso el sistema nervioso central. El defecto en la **hiperoxaluria primaria** es el fracaso para catabolizar el glioxilato que se forma por la desaminación de la glicina. La oxidación subsiguiente de glioxilato hacia oxalato causa urolitiasis, nefrocalcinosis y mortalidad temprana por insuficiencia renal o hipertensión. La **glicinuria** depende de un defecto de la resorción en los túbulos renales.

Serina

Luego de conversión en glicina, catalizada por la **serina hidroximetiltransferasa,** el catabolismo de la serina se fusiona con el de la glicina (fig. 29-7).

Alanina

La transaminación de α-alanina forma piruvato. Probablemente a causa de su participación fundamental en el metabolismo, no hay un defecto metabólico conocido del catabolismo de la α-alanina.

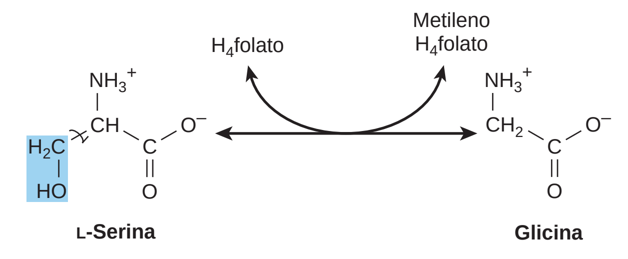


FIGURA 29-7 Interconversión de serina y glicina por la serina hidroximetiltransferasa. (H_4folato, tetrahidrofolato.)

L-Cistina
Cistina reductasa
NADH + H^+
NAD^+
L-Cisteína

FIGURA 29-8 La reacción de la cistina reductasa.

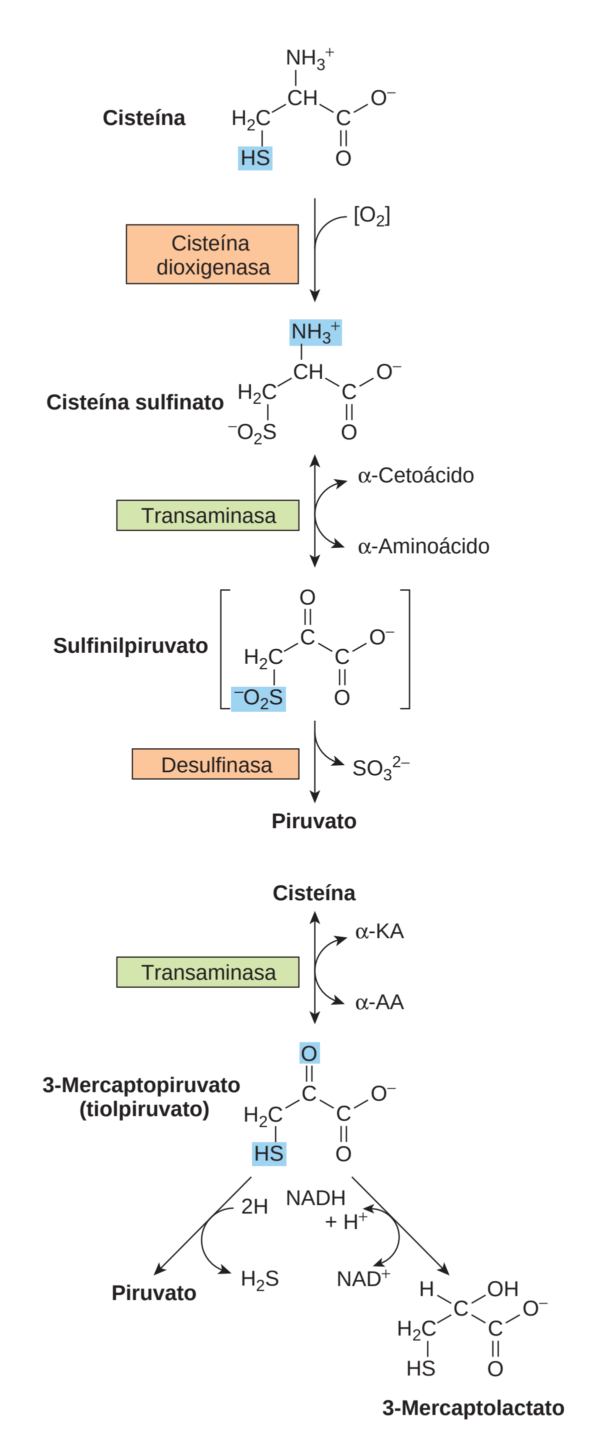


FIGURA 29-9 Catabolismo de la L-cisteína mediante la vía de la cisteína sulfinato **(arriba)** y por la vía del 3-mercaptopiruvato **(abajo).**

(Cisteína) (Homocisteína)

FIGURA 29-10 Disulfuro mixto de cisteína y homocisteína.

Cisteína

La cistina se reduce primero hacia cisteína por la **cistina reductasa** (fig. 29-8). A continuación dos vías convierten a la cisteína en piruvato (fig. 29-9). Hay muchas anormalidades del metabolismo de la cisteína. La cistina, lisina, arginina y ornitina se excretan en la **cistina-lisinuria (cistinuria),** un defecto de la resorción renal de estos aminoácidos. Salvo por la formación de cálculos de cistina, la cistinuria es benigna. El disulfuro mixto de la l-cisteína y la l-homocisteína (fig. 29-10) excretado por pacientes cistinúricos es más soluble que la cistina y reduce la formación de cálculos de esta última.

Varios defectos metabólicos ocasionan **homocistinurias** con o sin capacidad de respuesta a la vitamina B_6, entre ellos se incluyen una deficiencia de la reacción catalizada por la cistationina β-sintasa:

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Las consecuencias son osteoporosis y retraso mental. El transporte mediado por acarreador, defectuoso, de cistina, da por resultado **cistinosis (enfermedad por depósito de cistina)** con depósito de cristales de cistina en los tejidos, y muerte temprana por insuficien-

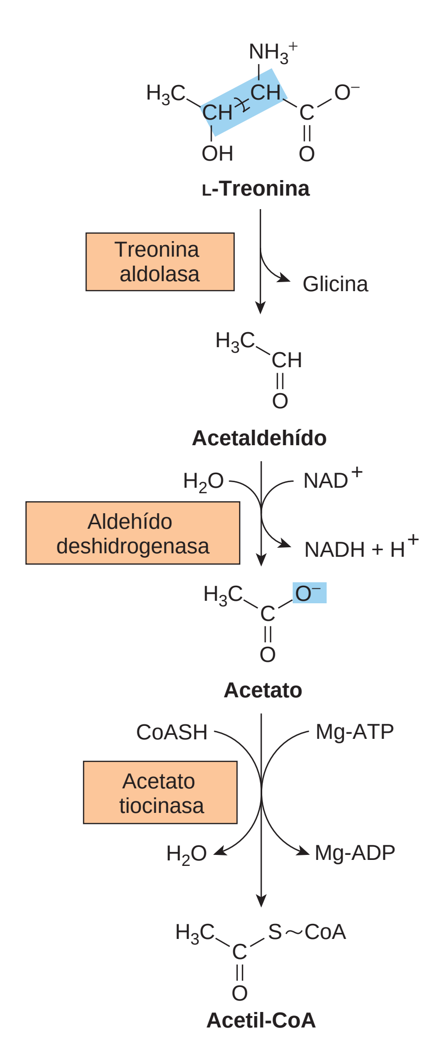


FIGURA 29-11 Conversión de treonina en glicina y acetil-CoA.

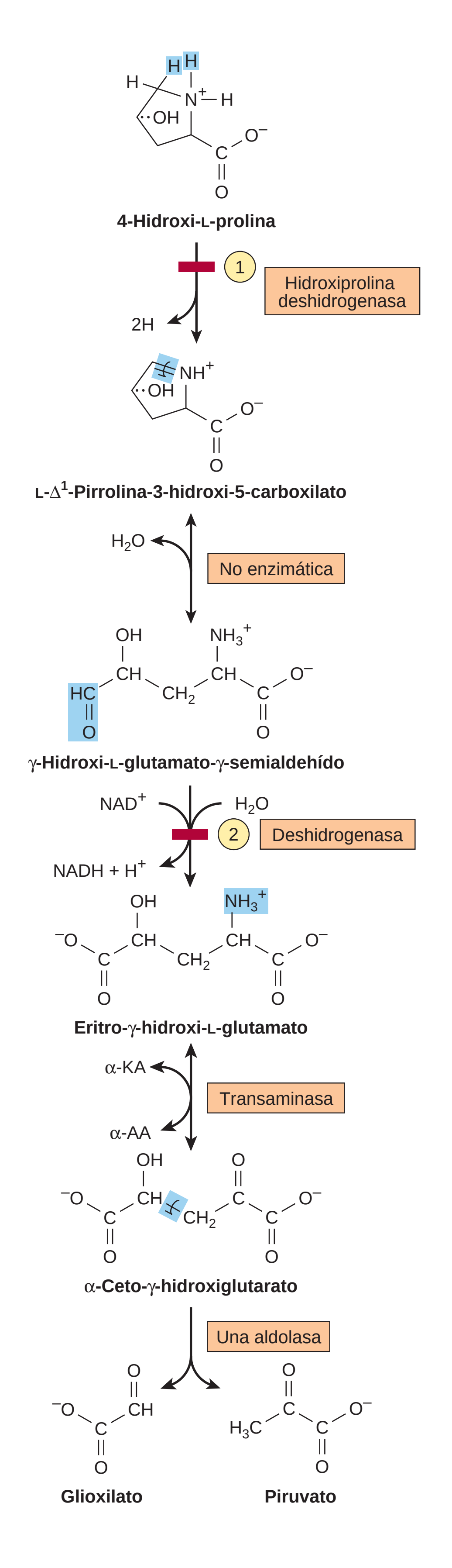


FIGURA 29-12 Intermediarios en el catabolismo de la L-hidroxiprolina. (α-KA, α-cetoácido; α-AA, α-aminoácido.) Los números identifican sitios de defectos metabólicos en ● hiperhidroxiprolinemia y ● hiperprolinemia tipo II.

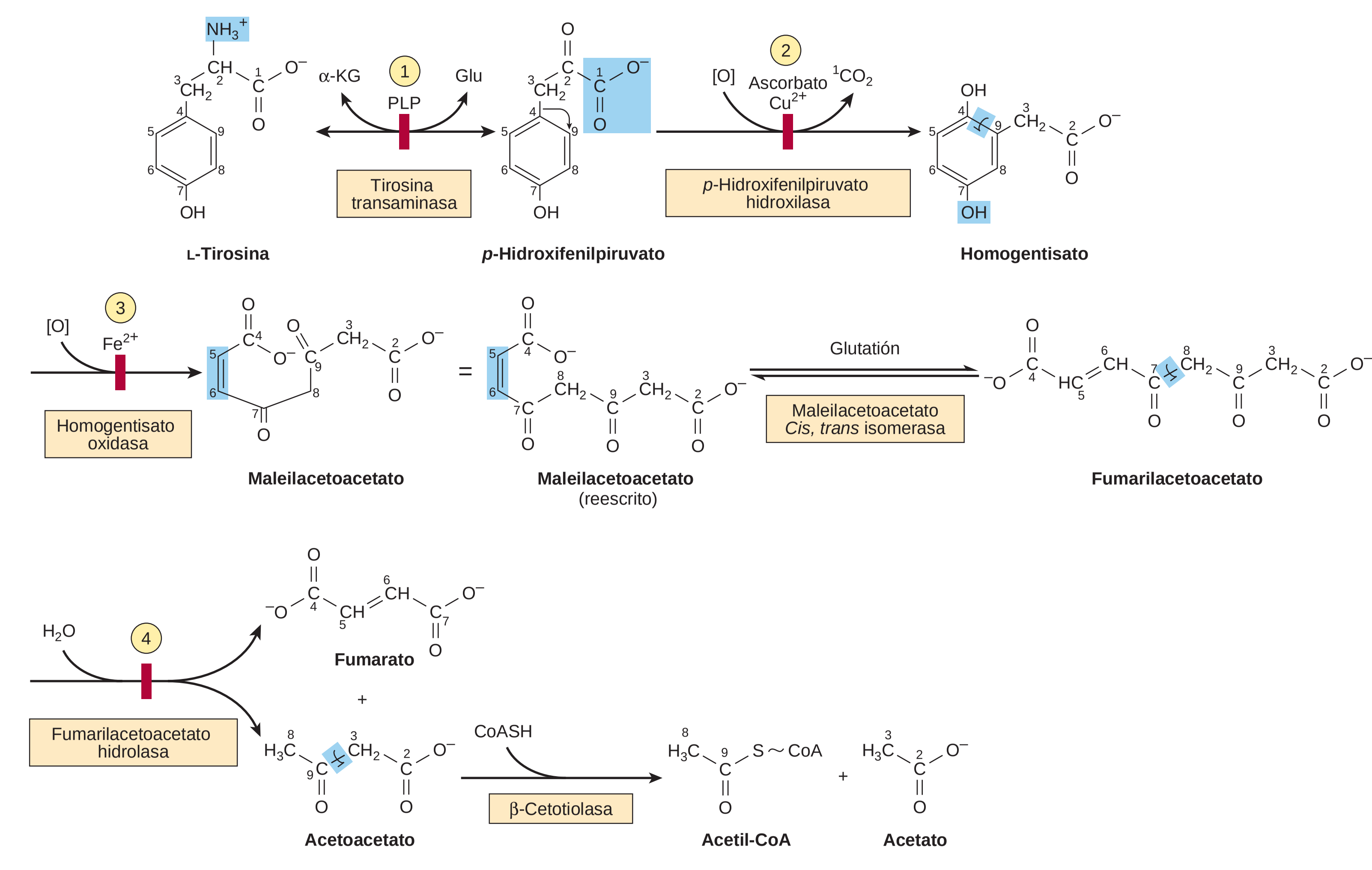


FIGURA 29-13 Intermediarios en el catabolismo de la tirosina. Los carbonos están numerados para recalcar su destino final. (α-KG, α-cetoglutarato; Glu, glutamato; PLP, fosfato de piridoxal.) Los números en un círculo representan los sitios probables de los defectos metabólicos en 1 la tirosinemia tipo II; 2 tirosinemia neonatal; 3 alcaptonuria, y 4 tirosinemia tipo I o tirosinosis.

cia renal aguda. Datos epidemiológicos y de otros tipos enlazan a las concentraciones plasmáticas de homocisteína con el riesgo cardiovascular, pero persisten las controversias acerca de la participación de la homocisteína como un factor de riesgo cardiovascular causal.

Treonina

La treonina aldolasa divide a la treonina hacia acetaldehído y glicina. La oxidación del acetaldehído hacia acetato va seguida por formación de acetil-CoA (fig. 29-11). Ya se comentó el catabolismo de la glicina.

4-Hidroxiprolina

El catabolismo de la 4-hidroxi-l-prolina forma, de manera sucesiva, l-Δ^1-pirrolina-3-hidroxi-5-carboxilato, γ-hidroxi-l-glutamato-γ-semialdehído, eritro-γ-hidroxi-l-glutamato, y α-ceto-γ-hidroxiglutarato. A continuación una división tipo aldol forma glioxilato más piruvato (fig. 29-12). Un defecto de la **4-hidroxiprolina deshidrogenasa** origina **hiperhidroxiprolinemia,** que es benigna. No hay deterioro relacionado del catabolismo de la prolina.

OTROS AMINOÁCIDOS QUE FORMAN ACETIL-CoA

Tirosina

En la figura 29-13 se muestra en un diagrama la conversión de tirosina en intermediarios anfibólicos. Puesto que el ascorbato es el reductor para la conversión de *p*-hidroxifenilpiruvato en homogentisato, los enfermos con escorbuto excretan productos del catabolismo de la tirosina oxidados de modo incompleto. Reacciones subsiguientes forman maleilacetoacetato, fumarilacetoacetato, fumarato, acetoacetato y finalmente acetil-CoA.

El defecto metabólico probable en la **tirosinemia tipo I (tirosinosis)** está en la **fumarilacetoacetato hidrolasa** (fig. 29-13). La terapia es una dieta con bajo contenido de tirosina y fenilalanina. La tirosinosis aguda y crónica sin tratamiento conduce a muerte por insuficiencia hepática. Los metabolitos alternativos de la tirosina también se excretan en la **tirosinemia tipo II (síndrome de Richner-Hanhart),** un defecto de la **tirosina aminotransferasa** (reacción 1, fig. 29-13), y en la **tirosinemia neonatal,** debida a actividad aminorada de la *p*-hidroxifenilpiruvato hidroxilasa (reacción 2, fig. 29-13). En la terapia se emplea una dieta con bajo contenido de proteína.

La **alcaptonuria** fue identificada por vez primera en el siglo xvi. Caracterizada en 1859, proporcionó la base para las ideas clásicas de Garrod respecto a trastornos metabólicos hereditarios. El defecto es la falta de **homogentisato oxidasa** (reacción 3, fig. 29-13). La orina se oscurece cuando queda expuesta al aire, debido a oxidación del homogentisato excretado. En etapas tardías de la enfermedad hay artritis y pigmentación del tejido conjuntivo (ocronosis) debido a oxidación de homogentisato hacia acetato de benzoquinona, que se polimeriza y se une al tejido conjuntivo.

Fenilalanina

La fenilalanina se convierte primero en tirosina (fig. 27-10); las reacciones subsiguientes son las de la tirosina (fig. 29-13). Las **hiperfenilalaninemias** surgen por defectos de la fenilalanina hidroxilasa misma (**fenilcetonuria** o **PKU clásica, tipo I,** frecuencia de 1 por cada 10 000 nacimientos), de la dihidrobiopterina reductasa **(tipos II y III),** o de la biosíntesis de la dihidrobiopterina **(tipos IV y V)** (figura 27-10). Se excretan catabolitos alternativos (fig. 29-14). Una dieta con poca fenilalanina puede evitar el retraso mental propio de la PKU.

Las sondas de DNA facilitan el diagnóstico prenatal de defectos de la fenilalanina hidroxilasa o de la dihidrobiopterina reductasa. Las cifras sanguíneas altas de fenilalanina pueden no ser detectables sino hasta 3 a 4 días después del nacimiento. Los resultados positivos falsos en prematuros pueden reflejar retraso de la maduración de las enzimas del catabolismo de la fenilalanina. En una prueba de detección más antigua y menos fiable se emplea $FeCl_3$ para detectar fenilpiruvato urinario. El análisis de la orina de recién nacidos en cuanto a $FeCl_3$, para detección de PKU, es obligatorio en muchos

FIGURA 29-14 Vías alternativas del catabolismo de la fenilalanina en la fenilcetonuria. Las reacciones también suceden en el tejido hepático normal, pero tienen importancia menor.

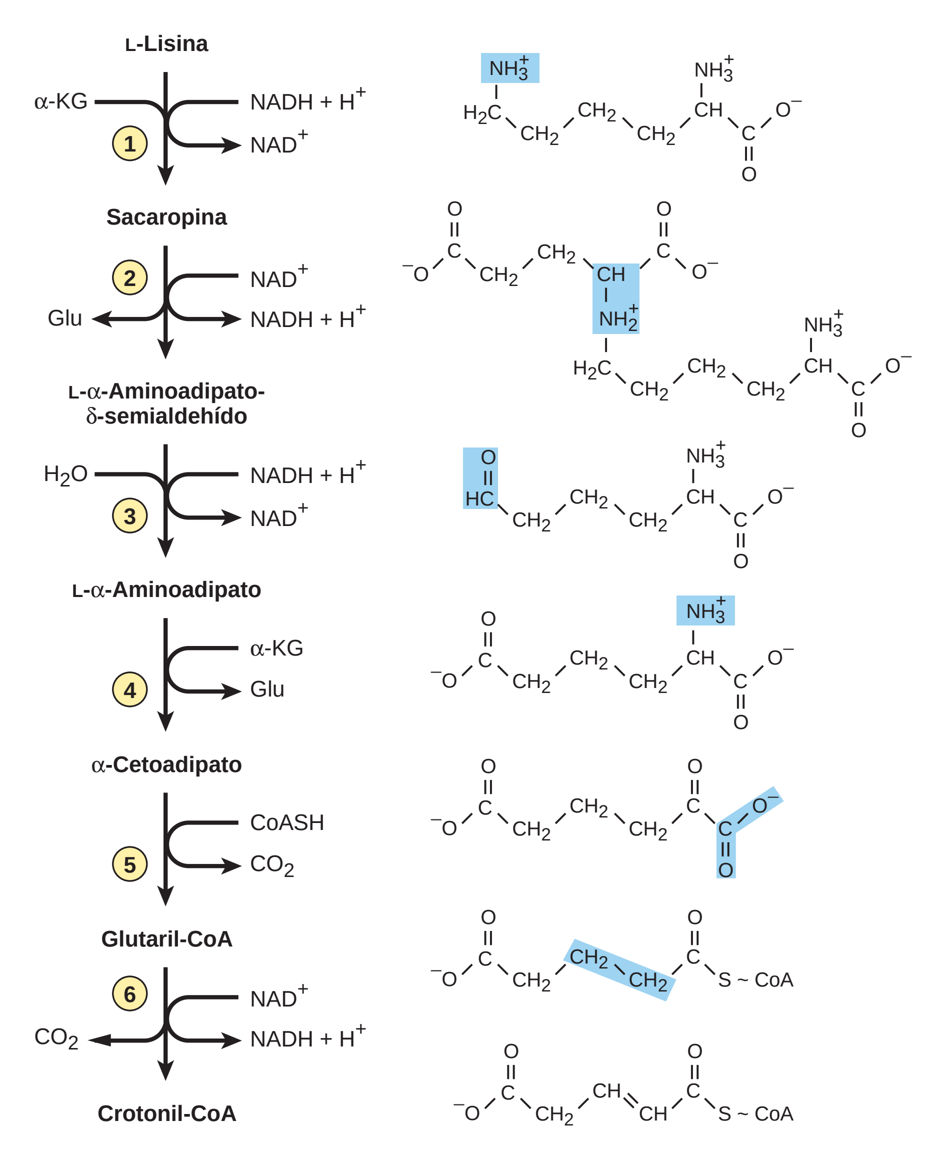


FIGURA 29-15 Reacciones e intermediarios en el catabolismo de la L-lisina. (α-KG, α-cetoglutarato; Glu, L-glutamato.) A la izquierda se muestran las reacciones y a la derecha las estructuras de los intermediarios. Las reacciones numeradas y los defectos metabólicos vinculados con el catabolismo de la lisina se comentan en el texto acompañante.

países, pero en EUA ha sido sustituido casi del todo por la espectrometría de masa en tándem.

Lisina

Las primeras seis reacciones del catabolismo de la l-lisina en el hígado humano forman la crotonil-CoA, que luego se degrada hacia acetil-CoA y CO_2 por medio de las reacciones del catabolismo de ácidos grasos (fig. 22-3). A continuación se hace referencia a las reacciones numeradas de la figura 29-15: las reacciones 1 y 2 convierten la base de Schiff que se forma entre α-cetoglutarato y el grupo ϵ-amino de la lisina en l-α-aminoadipato-δ-semialdehído. Ambas reacciones son catalizadas por una enzima bifuncional única, la aminoadipato semialdehído sintasa (también denominada lisina 2-oxoglutarato reductasa-sacaropina deshidrogenasa). La reducción de l-α-aminoadipato-δ-semialdehído hacia l-α-aminoadipato (reacción 3) va seguida por transaminación hacia α-cetoadipato (reacción 4). La conversión en el tioéster glutaril-CoA (reacción 5) va seguida por la descarboxilación de glutaril-CoA hacia crotonil-CoA (reacción 6). Las reacciones subsiguientes son las del catabolismo de ácidos grasos α-insaturados con un número impar de carbonos.

Los defectos metabólicos relacionados con reacciones de la vía catabólica de la lisina comprenden hiperlisinemias. La hiperlisinemia en ocasiones es dependiente de un defecto de la actividad 1 o 2 de la enzima bifuncional aminoadipato semialdehído sintasa. La hiperlisinemia sólo se acompaña de concentraciones altas de sacaropina en la sangre si el defecto afecta la actividad 2. Un defecto metabólico en la reacción 6 suscita una enfermedad metabólica hereditaria que muestra vínculo con degeneración del cuerpo estriado, y cortical, y que se caracteriza por cifras altas de glutarato y sus metabolitos, glutaconato y 3-hidroxiglutarato. El desafío en el ma-

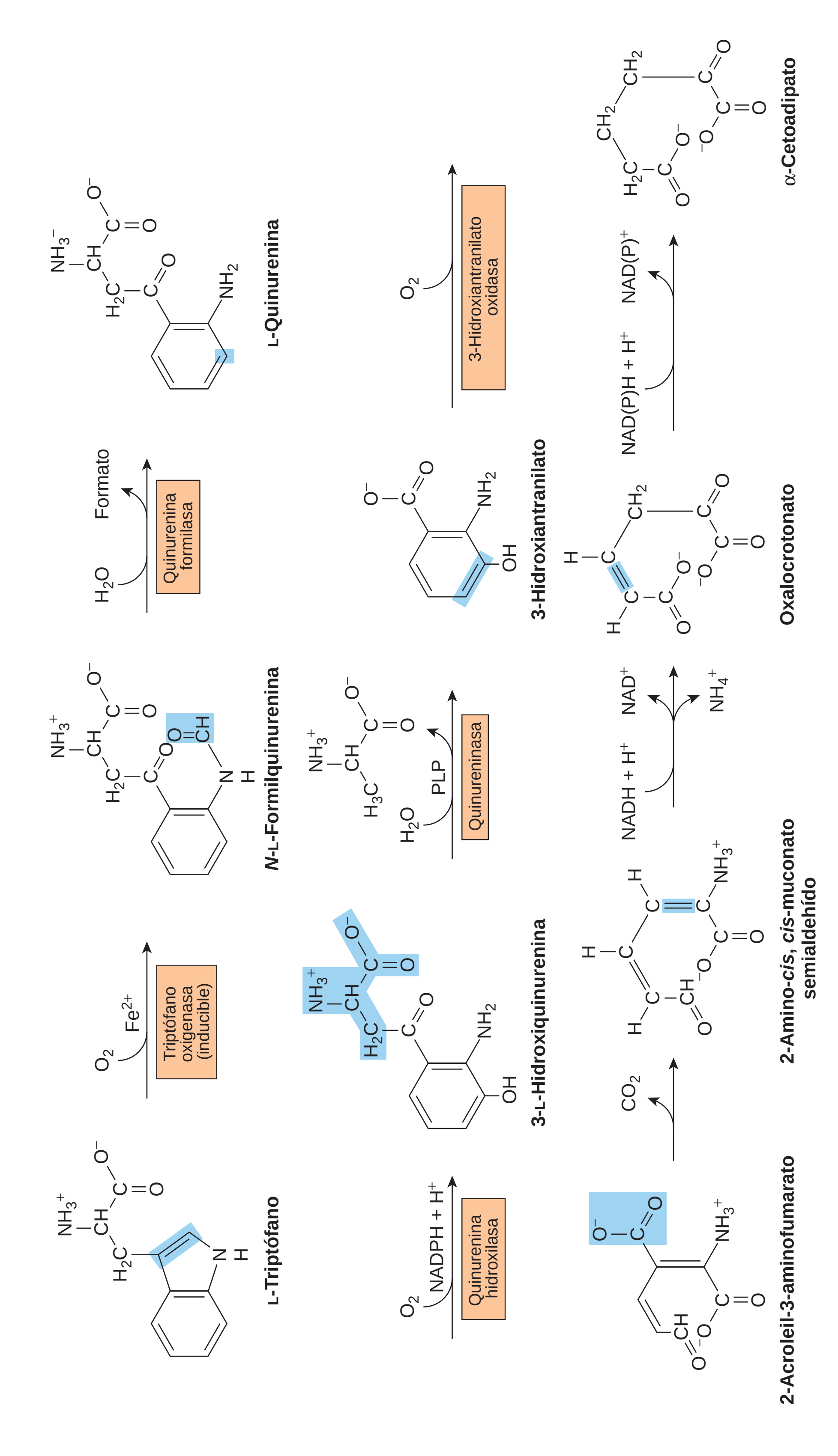


FIGURA 29-16 Catabolismo del L-triptófano (PLP, fosfato de piridoxal).

3-Hidroxiquinurenina

Xanturenato

FIGURA 29-17 Formación de xanturenato en la deficiencia de vitamina B_6. La conversión del metabolito del triptófano 3-hidroxiquinurenina en 3-hidroxiantranilato está alterada (fig. 29-16). En consecuencia, una porción grande se convierte en xanturenato.

nejo de estos defectos metabólicos es restringir la ingestión de l-lisina en la dieta sin malnutrición acompañante.

Triptófano

Se degrada hacia intermediarios anfibólicos mediante la vía de la quinurenina-antranilato (fig. 29-16). La **triptófano oxigenasa (triptófano pirrolasa)** abre el anillo indol, incorpora oxígeno molecular, y forma *N*-formilquinurenina. La triptófano oxigenasa, una metaloproteína de porfirina de hierro que es inducible en el hígado por los corticosteroides suprarrenales y por el triptófano, es inhibida por retroacción por derivados del ácido nicotínico, incluso NADPH. La eliminación hidrolítica del grupo formilo de la *N*-formilquinurenina, catalizada por la **quinurenina formilasa,** produce quinurenina. Dado que la **quinureninasa** requiere fosfato de piridoxal, la excreción de xanturenato (fig. 29-17) en respuesta a una carga de triptófano es diagnóstica de deficiencia de vitamina B_6. La **enfermedad de Hartnup** refleja alteración del transporte intestinal y renal de triptófano y de otros aminoácidos neutros. Los derivados indol del triptófano no absorbido formados por las bacterias intestinales se excretan. El defecto limita la disponibilidad de triptófano para la biosíntesis de niacina, y explica los signos y síntomas parecidos a pelagra.

Metionina

La metionina reacciona con la *S*-adenosilmetionina formadora de ATP, la “metionina activa” (fig. 29-18). Las reacciones subsiguientes forman propionil-CoA (fig. 29-19) y, por último, succinil-CoA (véase fig. 20-2).

LAS REACCIONES INICIALES SON COMUNES A LOS TRES AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Las reacciones 1 a 3 de la figura 29-20 son análogas a las del catabolismo de ácidos grasos (fig. 22-3). Después de transaminación, los tres α-cetoácidos pasan por descarboxilación oxidativa catalizada por **α-cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa** mitocondrial. Este complejo enzimático multimérico de una descarboxilasa, una transacilasa y una dihidrolipoil deshidrogenasa semeja de manera estrecha a la piruvato deshidrogenasa (fig. 18-5). Su regulación también corre pareja con la de esta última; la fosforilación la desactiva y la desfosforilación la reactiva (fig. 18-6). La reacción 3 es

L-Metionina + ATP → *S*-Adenosil-L-metionina (“metionina activa”) (L-Metionina adenosiltransferasa)

FIGURA 29-18 Formación de *S*-adenosilmetionina. ~CH_3 representa el alto potencial de transferencia de grupo de la “metionina activa”.

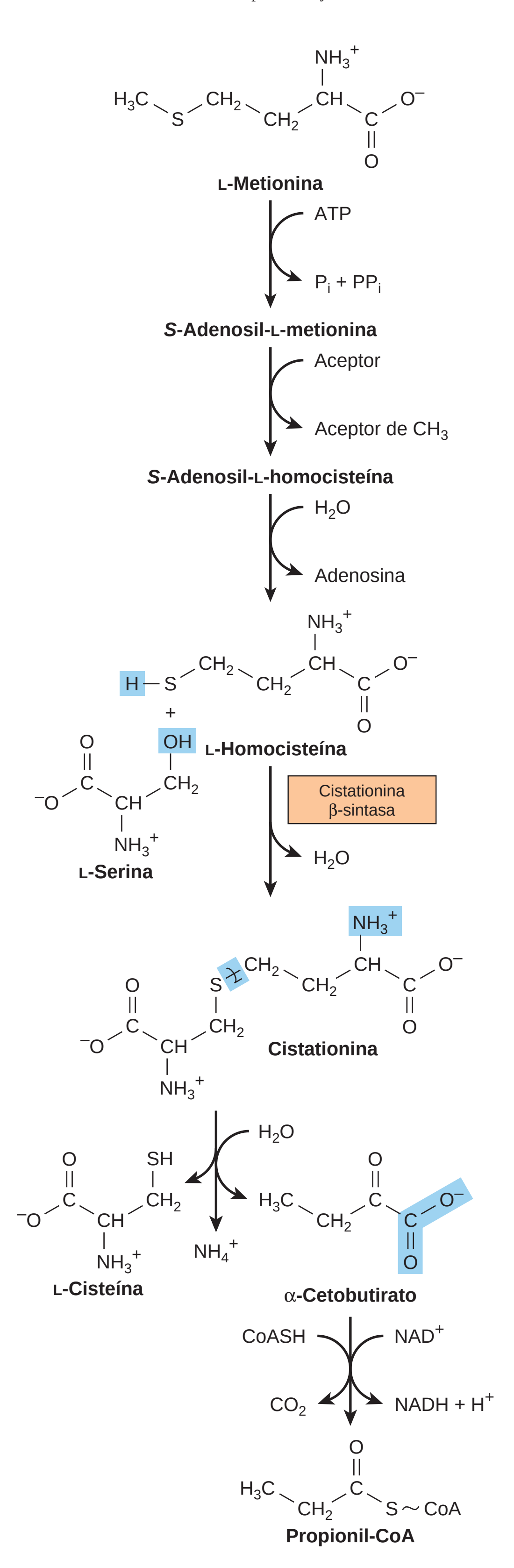


FIGURA 29-19 Conversión de metionina en propionil-CoA.

análoga a la deshidrogenación de acil-CoA tioésteres grasos (fig. 22-3). En la **acidemia isovalérica,** la ingestión de alimentos con alto contenido de proteínas aumenta el isovalerato, el producto de desacilación de la isovaleril-CoA. Las figuras 29-21, 29-22 y 29-23 ilustran las reacciones subsiguientes singulares para cada esqueleto de aminoácidos.

TRASTORNOS METABÓLICOS DEL CATABOLISMO DE AMINOÁCIDOS DE CADENA RAMIFICADA

Como su nombre lo indica, el olor de la orina en la **enfermedad de la orina de jarabe de arce (cetonuria de cadena ramificada)** sugiere jarabe de arce o azúcar quemada. El defecto bioquímico incluye el complejo de **α-cetoácido descarboxilasa** (reacción 2, fig. 29-20). Las concentraciones plasmáticas y urinarias de leucina, isoleucina, valina, α-cetoácidos, y α-hidroxi ácidos (α-cetoácidos reducidos) están altas. Se desconoce el mecanismo de toxicidad. En el diagnóstico temprano, en especial antes de los siete días de edad, se emplean análisis enzimáticos. El remplazo expedito de la proteína de la dieta por una mezcla de aminoácidos que carece de leucina, isoleucina y valina impide el daño cerebral y la muerte temprana.

La mutación del componente dihidrolipoato reductasa altera la descarboxilación de α-cetoácidos de cadena ramificada, de piruvato y de α-cetoglutarato. En la **cetonuria de cadena ramificada intermitente,** la α-cetoácido descarboxilasa retiene algo de actividad, y los síntomas aparecen en etapas más avanzadas de la vida. La enzima alterada en la **acidemia isovalérica** es la **isovaleril-CoA deshidrogenasa** (reacción 3, fig. 29-20). La ingestión de proteína excesiva va seguida por vómito, acidosis y coma. La isovaleril-CoA acumulada se hidroliza hacia isovalerato y se excreta.

RESUMEN

- Los aminoácidos excesivos se catabolizan hacia intermediarios an bólicos que sirven como fuentes de energía y para la biosíntesis de carbohidratos y lípidos.
- La transaminación es la reacción inicial más frecuente del catabolismo de aminoácidos. Las reacciones subsiguientes eliminan cualquier nitrógeno adicional y reestructuran los esqueletos de hidrocarburo para la conversión hacia oxaloacetato, α-cetoglutarato, piruvato y acetil-CoA.
- Las enfermedades metabólicas relacionadas con el catabolismo de la glicina son la glicinuria, y la hiperoxaluria primaria.
- Dos vías convierten la cistina en piruvato. Los trastornos metabólicos del catabolismo de la cisteína son la cistina-lisinuria, la enfermedad por depósito de cistina, y las homocistinurias.
- El catabolismo de la treonina se fusiona con el de la glicina luego de que la treonina aldolasa divide la treonina hacia glicina y acetaldehído.
- Después de transaminación, el esqueleto de carbono de la tirosina se degrada hacia fumarato y acetoacetato. Las enfermedades

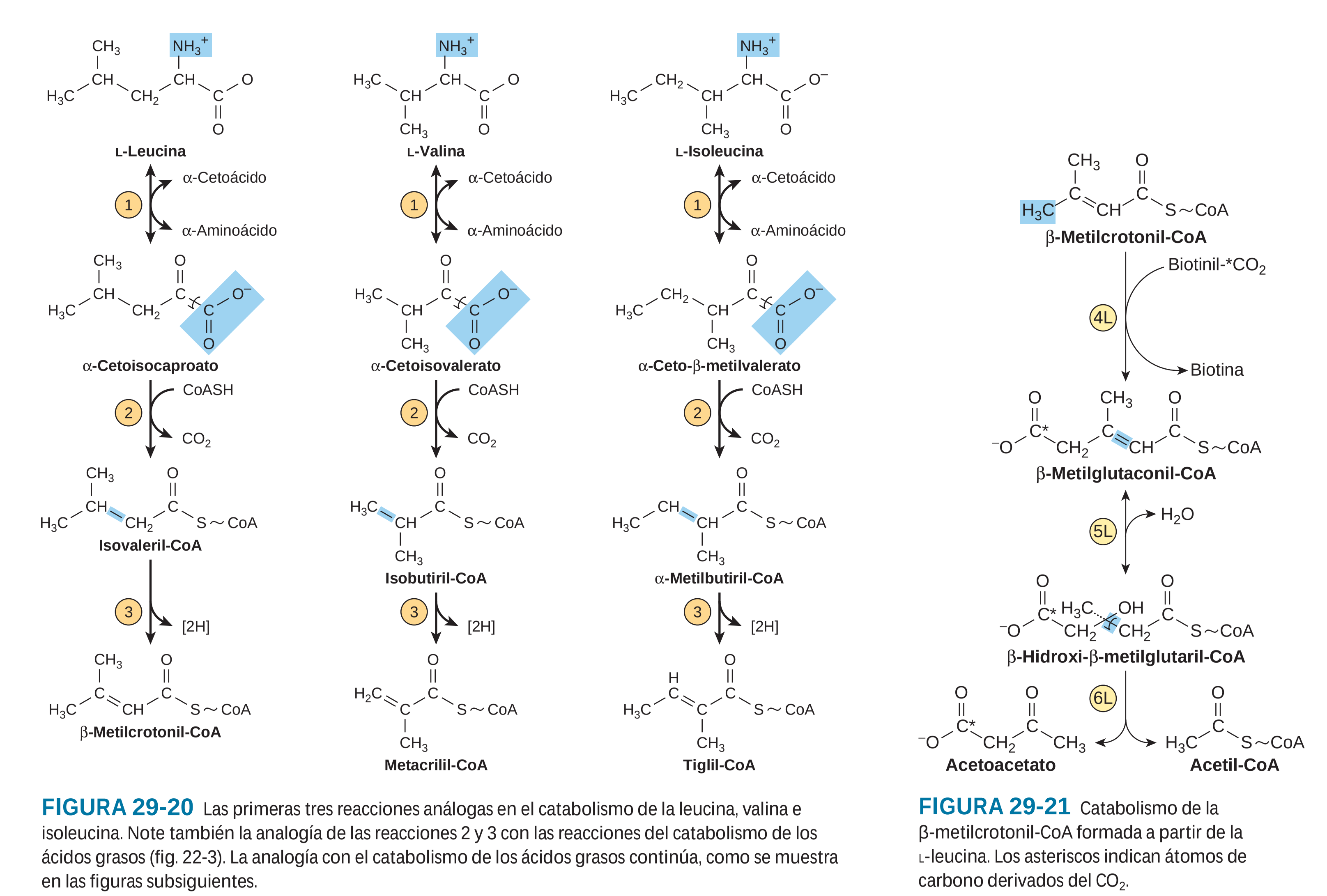


FIGURA 29-20 Las primeras tres reacciones análogas en el catabolismo de la leucina, valina e isoleucina. Note también la analogía de las reacciones 2 y 3 con las reacciones del catabolismo de los ácidos grasos (fig. 22-3). La analogía con el catabolismo de los ácidos grasos continúa, como se muestra en las figuras subsiguientes.

FIGURA 29-21 Catabolismo de la β-metilcrotonil-CoA formada a partir de la L-leucina. Los asteriscos indican átomos de carbono derivados del CO_2.

metabólicas del catabolismo de la tirosina son la tirosinosis, el síndrome de Richner-Hanhart, la tirosinemia neonatal y la alcaptonuria.

- Los trastornos metabólicos del catabolismo de la fenilalanina son la fenilcetonuria (PKU) y varias hiperfenilalaninemias.
- Ningún nitrógeno de la lisina pasa por transaminación directa. Sin embargo, el mismo efecto se logra por medio de la formación intermedia de sacaropina. Las enfermedades metabólicas del catabolismo de la lisina son formas periódica y persistente de hiperlisinemia-amonemia.
- El catabolismo de la leucina, valina e isoleucina presenta muchas analogías con el catabolismo de ácidos grasos. Los trastornos metabólicos del catabolismo de los aminoácidos de cadena rami cada son la hipervalinemia, la enfermedad de la orina de jarabe de arce, la cetonuria de cadena rami cada intermitente, acidemia isovalérica y aciduria metilmalónica.

FIGURA 29-22 Catabolismo subsiguiente de la tiglil-CoA formada a partir de L-isoleucina.

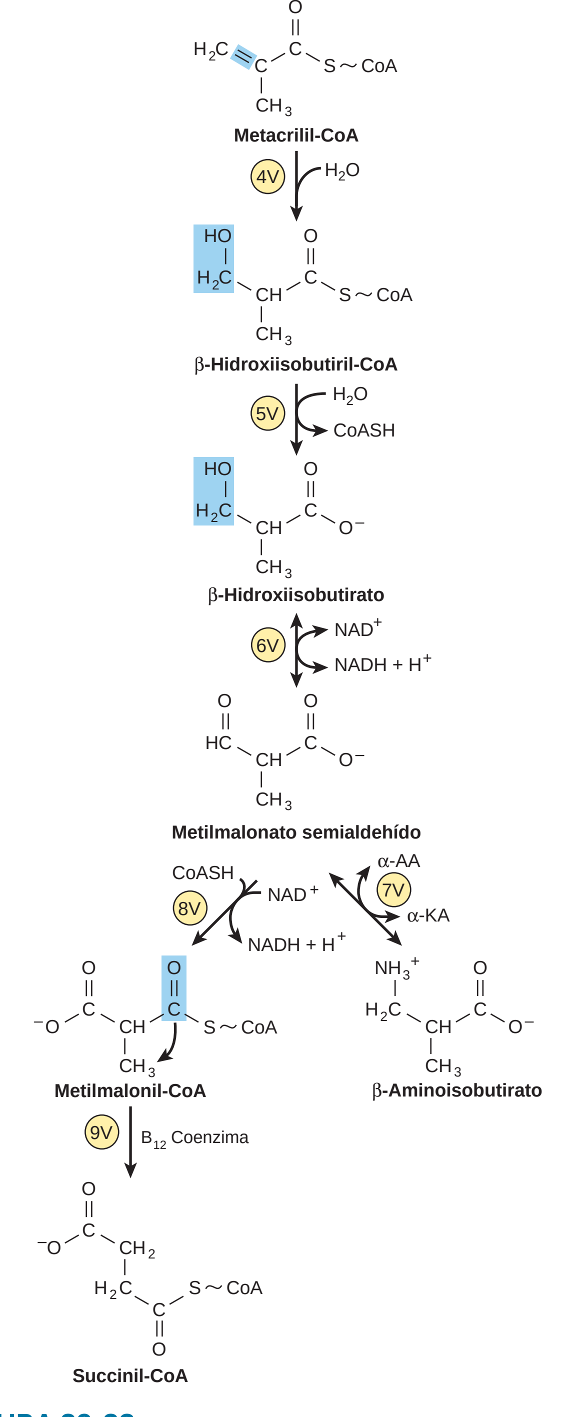


FIGURA 29-23 Catabolismo subsiguiente de la metacrilil-CoA formada a partir de la L-valina (fig. 29-20). (α-KA, α-cetoácido; α-AA, α-aminoácido.)

REFERENCIAS

Blacher J, Safar ME: Homocysteine, folic acid, B vitamins and cardiovascular risk. J Nutr Health Aging 2001;5:196.

Bliksrud YT et al: Tyrosinemia type I, de novo mutation in liver tissue suppressing an inborn splicing defect. J Mol Med 2005;83:406.

Flusser H et al: Mild glycine encephalopathy (NKH) in a large kindred due to a silent exonic *GLDC* splice mutation. Neurology 2005;64:1426.

Garg U, Dasouki M: Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry. Clinical and laboratory aspects. Clin Biochem 2006;39:315.

Gerstner B et al: Glutaric acid and its metabolites cause apoptosis in immature oligodendrocytes: a novel mechanism of white matter degeneration in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. Pediatr Res 2005;57;771.

Häussinger D, Schliess F: Glutamine metabolism and signaling in the liver. Front Biosci 2007;12:371.

Gjetting T et al: A phenylalanine hydroxylase amino acid polymorphism with implications for molecular diagnostics. Mol Genet Metab 2001;73:280.

Heldt K et al: Diagnosis of maple syrup urine disease by newborn screening allows early intervention without extraneous detoxification. Mol Genet Metab 2005;84:313.

Moshal K et al: Cardiac dys-synchronization and arrhythmia in hyperhomocysteinemia. Curr Neurovasc Res |2007;4:289.

Muller E, Kolker S: Reduction of lysine intake while avoiding malnutrition: major goals and major problems in dietary treatment of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. J Inherit Metab Dis 2004;27:903.

Sacksteder KA et al: Identification of the alpha-aminoadipic semialdehyde synthase gene which is defective in familial hyperlysinemia. Am J Hum Genet 2000;66:1736.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Waters PJ, Scriver CR, Parniak MA: Homomeric and heteromeric interactions between wild-type and mutant phenylalanine hydroxylase subunits: evaluation of two-hybrid approaches for functional analysis of mutations causing hyperphenylalaninemia. Mol Genet Metab 2001;73:230.

CAPÍTULO

30

Conversión de aminoácidos en productos especializados

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Ciertas proteínas contienen aminoácidos que han pasado por modificación postraduccional con el fin de permitirles realizar funciones específicas. Los ejemplos son la carboxilación del glutamato para formar γ-carboxiglutamato, que funciona en la unión de Ca^{2+}, la hidroxilación de prolina para la incorporación hacia la triple hélice de colágeno, y la hidroxilación de lisina hacia hidroxilisina cuya modificación y entrecruzamiento subsiguientes estabilizan fibras de colágeno en maduración. Además de servir como los bloques de construcción para la síntesis de proteína, ciertos aminoácidos desempeñan otras funciones como precursores de materiales biológicos, como hem, purinas, pirimidinas, hormonas, neurotransmisores y péptidos que tienen actividad biológica. La histamina tiene una función fundamental en muchas reacciones alérgicas. Los neurotransmisores derivados de aminoácidos incluyen γ-aminobutirato, 5-hidroxitriptamina (serotonina), dopamina, norepinefrina y epinefrina. Muchos de los fármacos que se usan para tratar enfermedades neurológicas y psiquiátricas actúan al alterar el metabolismo de estos neurotransmisores.

L-α-AMINOÁCIDOS

Alanina

Sirve como un acarreador de amoniaco y de los carbonos del piruvato desde el músculo estriado hacia el hígado por medio del ciclo de Cori (fig. 20-4), y junto con la glicina constituye una fracción importante de los aminoácidos libres en el plasma.

Arginina

La figura 30-1 resume los destinos metabólicos de la arginina. La reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa, una oxidorreductasa de cinco electrones con múltiples cofactores, convierte un nitrógeno del grupo guanidina de la arginina en óxido nítrico (NO), una molécula emisora de señales intercelulares que sirve como un neurotransmisor, relajante del músculo liso y vasodilatador (cap. 49).

$$\text{L-Arginina} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \rightarrow \text{NO} + \text{citrulina} + \text{NADP}^+$$

El grupo guanidino de la arginina se incorpora en la creatina, y después de conversión en ornitina, su esqueleto de carbono se convierte en el de las poliaminas putrescina y espermina.

Cisteína

Participa en la biosíntesis de la coenzima A (fig. 44-18) al reaccionar con pantotenato para formar 4-fosfopantotenoil-cisteína (fig. 30-2). Tres reacciones catalizadas por enzima convierten la cisteína en taurina, que puede desplazar la porción coenzima A de la colil-CoA para formar el ácido biliar ácido taurocólico (fig. 26-7). La conversión de cisteína en taurina se inicia por su oxidación hacia cisteína sulfinato, catalizada por la enzima Fe^{2+} no hem cisteína dioxigenasa. La descarboxilación de cisteína sulfinato por la cisteína sulfinato descarboxilasa forma hipotaurina, cuya oxidación por la hipotaurina deshidrogenasa forma taurina (fig. 30-3).

Glicina

Los metabolitos y los productos farmacéuticos excretados como conjugados de glicina hidrosolubles comprenden el ácido glicocólico (cap. 26) y el ácido hipúrico formado a partir del aditivo de alimentos benzoato (fig. 30-4). Muchos medicamentos, metabolitos de fármacos, y otros compuestos con grupos carboxilo se excretan en la orina como conjugados de glicina. Esta última se incorpora en la creatina, y el nitrógeno y el carbono α de la glicina se incorporan en los anillos pirrol y los carbonos de puente de metileno del hem (cap. 31), y toda la molécula de glicina se convierte en los átomos 4, 5 y 7 de purinas (fig. 33-1).

Histidina

La descarboxilación de la histidina por la enzima histidina descarboxilasa, dependiente de piridoxal 5′-fosfato, forma histamina (fig. 30-5). La histamina, una amina biogénica que funciona en las reacciones alérgicas y la secreción gástrica, está presente en todos los tejidos. Su concentración en el hipotálamo varía de acuerdo con un ritmo circadiano. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano son ergotioneína, carnosina y la anserina de la dieta (fig. 30-6). Aun cuando se desconocen sus funciones fisiológicas, la carnosina (β-alanil-histidina) y la homocarnosina (γ-aminobutiril-histidina) son constituyentes importantes de tejidos excitables, del cerebro y del músculo estriado. Las cifras urinarias de 3-metilhistidina son extraordinariamente bajas en pacientes con **enfermedad de Wilson.**

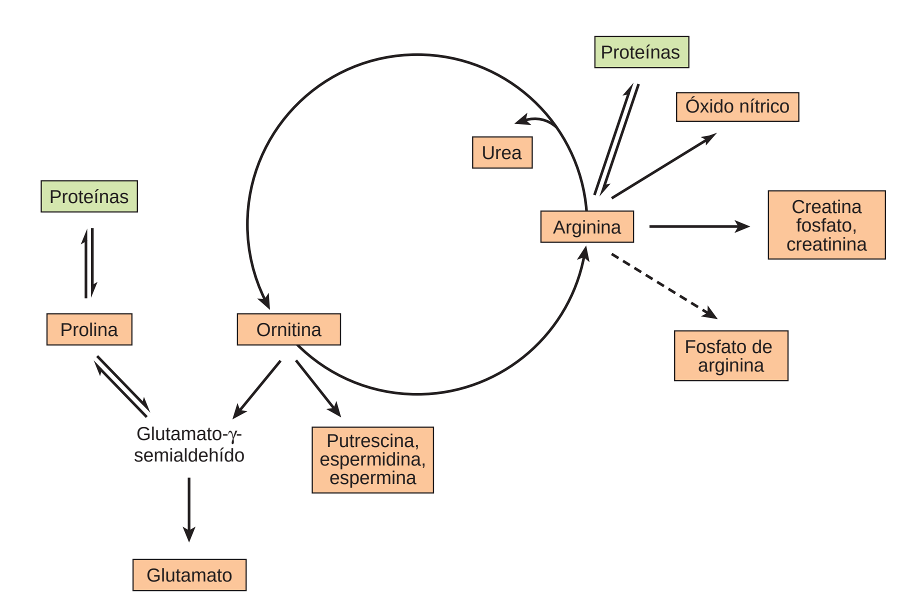


FIGURA 30-1 Metabolismo de la arginina, ornitina y prolina. Todas las reacciones con flechas continuas suceden en tejidos de mamífero. La putrescina y espermina se sintetizan tanto en mamíferos como en bacterias. El fosfato de arginina del músculo de invertebrados funciona como un fosfágeno análogo a la creatina fosfato del músculo de mamíferos.

Metionina

El principal destino no proteínico de la metionina es la conversión en *S*-adenosilmetionina, la fuente primordial de grupos metilo en el cuerpo. La *S*-adenosilmetionina es sintetizada a partir de metionina y ATP, una reacción catalizada por la metionina adenosiltransferasa (MAT) (fig. 30-7). Los tejidos humanos contienen tres isozimas de MAT (MAT-1 y MAT-3 del hígado, y MAT-2 de tejidos no hepáticos). Aun cuando la **hipermetioninemia** puede producirse por una disminución grave de la actividad de la MAT-1 y MAT-3 hepáticas, si hay actividad residual de MAT-1/MAT-3, y la actividad de la MAT-2 es normal, una concentración hística alta de metionina asegurará síntesis de cantidades adecuadas de *S*-adenosilmetionina.

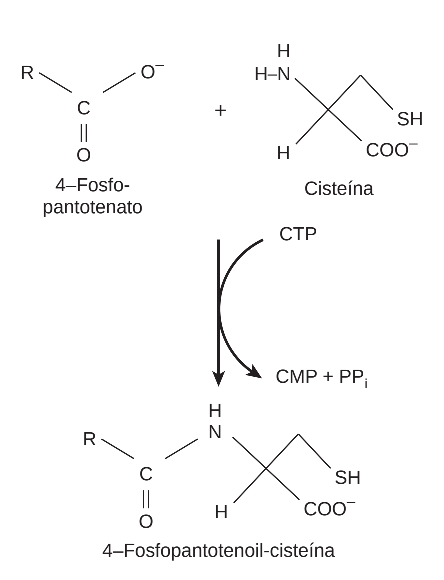


FIGURA 30-2 La reacción catalizada por la fosfopantotenato-cisteína ligasa. R-COO⁻ representa 4-fosfopantotenato.

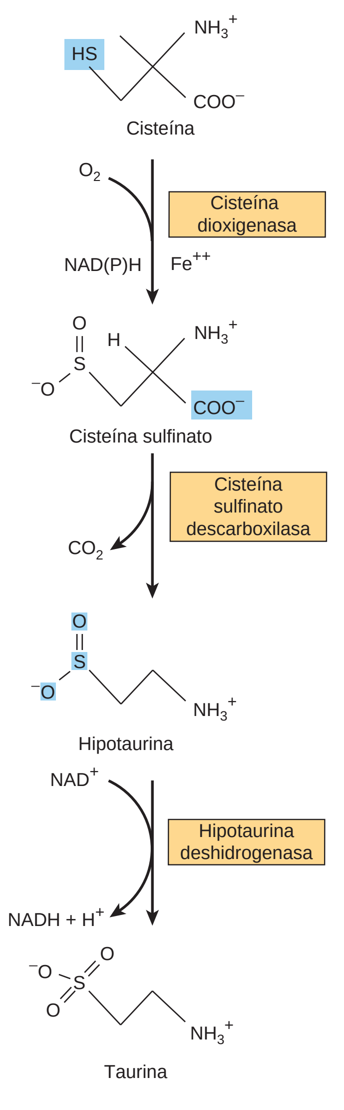


FIGURA 30-3 Conversión de cisteína en taurina. Las reacciones son catalizadas por la cisteína dioxigenasa, la cisteína sulfinato descarboxilasa, y la hipotaurina descarboxilasa, respectivamente.

FIGURA 30-4 Biosíntesis del hipurato. Ocurren reacciones análogas con muchos medicamentos y catabolitos acídicos.

FIGURA 30-5 La reacción catalizada por la histidina descarboxilasa.

FIGURA 30-6 Derivados de la histidina. Los recuadros en color rodean a los componentes no derivados de la histidina. El grupo SH de la ergotioneína se deriva de la cisteína.

Luego de descarboxilación de *S*-adenosilmetionina por la metionina descarboxilasa, tres carbonos y el grupo α-amino de la metionina contribuyen a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina (fig. 30-8). Estas poliaminas funcionan en la proliferación y el crecimiento celulares, son factores de crecimiento para células de mamífero en cultivo, y estabilizan células intactas, organelos subcelulares y membranas. Las dosis farmacológicas de poliaminas originan hipotermia e hipotensión. Dado que portan múltiples cargas positivas, las poliaminas se asocian fácilmente con DNA y RNA. En la figura 30-8 se resume la biosíntesis de poliaminas a partir de metionina y ornitina, y en la figura 30-9, el catabolismo de las poliaminas.

FIGURA 30-7 Biosíntesis de la *S*-adenosilmetionina, catalizada por la metionina adenosiltransferasa (MAT).

Serina

Participa en la biosíntesis de la esfingosina (cap. 24), y de purinas y pirimidinas, donde proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas, y el grupo metilo de la timina (cap. 33). La cistationina β-sintasa cataliza la conversión de serina en homocisteína:

$$\text{Serina} + \text{homocisteína} \rightarrow \text{cistationina} + H_2O$$

Triptófano

Después de la hidroxilación del triptófano hacia 5-hidroxitriptófano por la tirosina hidroxilasa hepática, la descarboxilación subsiguien-

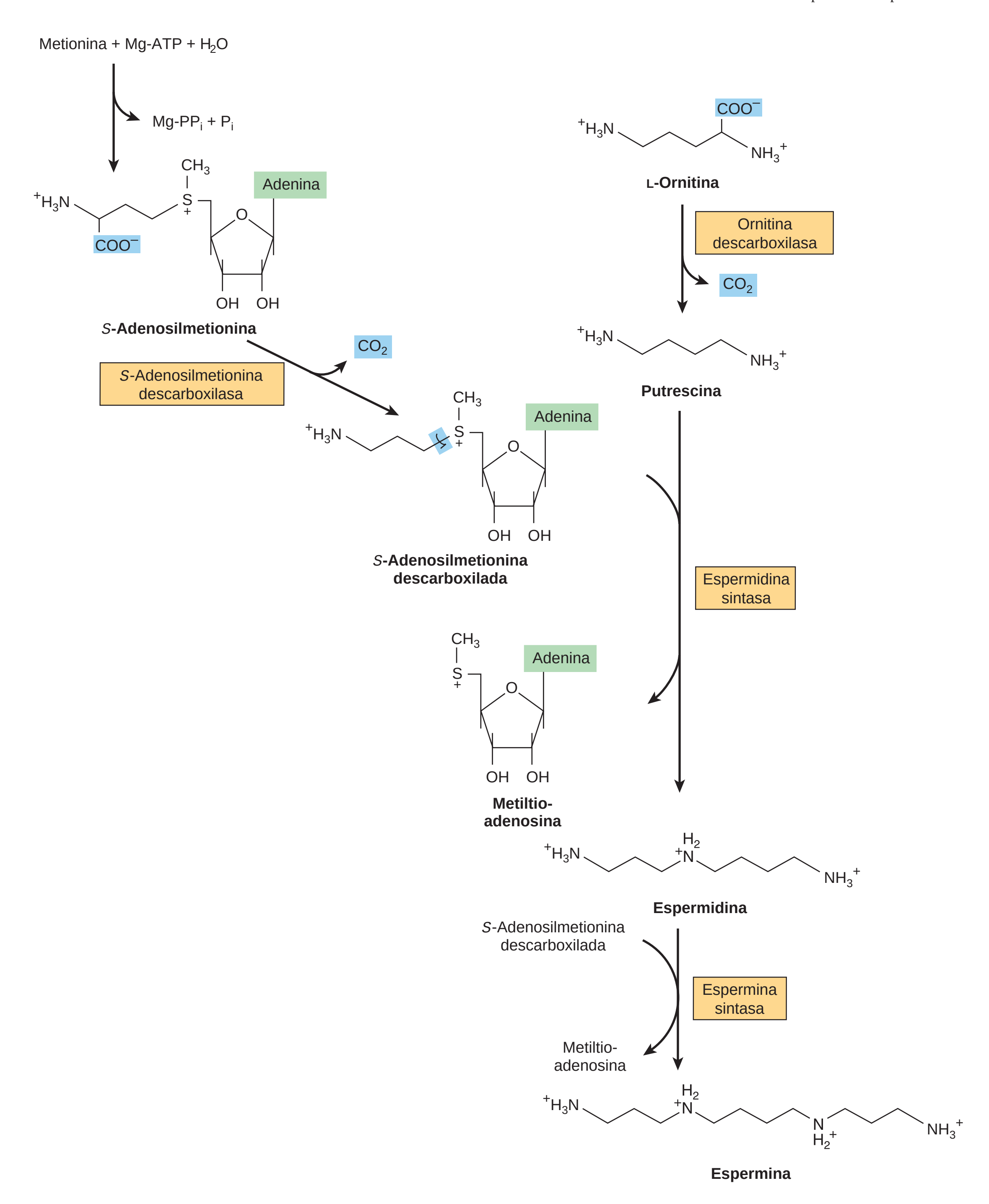


FIGURA 30-8 Intermediarios y enzimas que participan en la biosíntesis de la espermidina y la espermina.

te forma serotonina (5-hidroxitriptamina), un potente vasoconstrictor y estimulador de la contracción del músculo liso. El catabolismo de la serotonina inicia por la desaminación oxidativa hacia 5-hidroxiindol-3-acetato catalizada por la monoaminooxidasa (MAO) (fig. 30-10). La estimulación psíquica que se observa tras la administración de iproniazida se produce por su capacidad para prolongar la acción de la serotonina al inhibir a la MAO. En el carcinoide (argentafinoma), las células tumorales producen cantidades excesivas de serotonina. Los metabolitos urinarios de esta última en sujetos con carcinoide incluyen *N*-acetilserotonina glucurónido y el conjugado glicina del 5-hidroxiindolacetato. La serotonina y la 5-metoxitriptamina se metabolizan hacia los ácidos correspondientes por medio de la MAO. La *N*-acetilación de la serotonina, seguida por su *O*-metilación en el cuerpo pineal, forma melatonina. La melatonina circulante es captada por todos los tejidos, incluso el cerebro, pero se metaboliza con rapidez por medio de hidroxilación seguida por conjugación con sulfato o con ácido glucurónico. Los tejidos renal y hepático, así como las bacterias fecales, convierten el

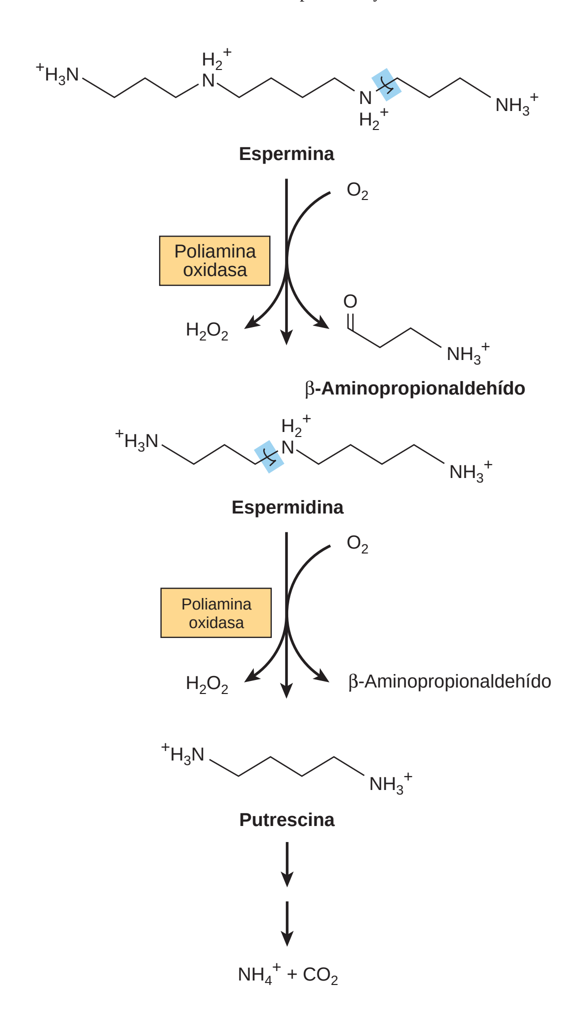


FIGURA 30-9 Catabolismo de poliaminas. Las estructuras están abreviadas para facilitar la presentación.

triptófano en triptamina y luego en indol 3-acetato. Los principales catabolitos urinarios normales del triptófano son el 5-hidroxiindolacetato y el indol 3-acetato.

Tirosina

Las células neurales convierten la tirosina en epinefrina y norepinefrina (fig. 30-11). Aunque la dopa también es un intermediario en la formación de melanina, diferentes enzimas hidroxilan a la tirosina en melanocitos. La dopa descarboxilasa, una enzima dependiente de fosfato de piridoxal, forma dopamina. La hidroxilación subsiguiente por la dopamina β-oxidasa a continuación forma norepinefrina. En la médula suprarrenal, la feniletanolamina-*N*-metiltransferasa utiliza *S*-adenosilmetionina para metilar la amina primaria de la norepinefrina, lo que forma epinefrina (fig. 30-11). La tirosina también es un precursor de la triyodotironina y la tiroxina (véase cap. 41).

Fosfoserina, fosfotreonina y fosfotirosina

La fosforilación y desfosforilación de residuos serilo, treonilo o tirosilo específicos de proteínas regulan la actividad de ciertas enzimas del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos (caps. 9 y 19 a 26) y de proteínas que participan en cascadas de transducción de señal (cap. 42).

Sarcosina (*N*-metilglicina)

La biosíntesis y el catabolismo de la sarcosina (*N*-metilglicina) ocurren en las mitocondrias. La formación de sarcosina a partir de dimetilglicina es catalizada por la flavoproteína dimetilglicina deshidrogenasa, que requiere pteroilpentaglutamato (TPG) reducido

$$\text{Dimetilglicina} + FADH_2 + H_4TPG + H_2O \rightarrow \text{sarcosina} + N\text{-formil-TPG}$$

Cantidades traza de sarcosina también pueden surgir por metilación de glicina, una reacción catalizada por la *S*-adenosilmetionina:glicina metiltransferasa.

$$\text{Glicina} + S\text{-adenosilmetionina} \rightarrow \text{sarcosina} + S\text{-adenosilhomocisteína}$$

El catabolismo de la sarcosina hacia glicina, catalizado por la flavoproteína sarcosina deshidrogenasa, también necesita TPG reducido:

$$\text{Sarcosina} + FAD + H_4TPG + H_2O \rightarrow \text{glicina} + FADH_2 + N\text{-formil-TPG}$$

Las reacciones de desmetilación que forman y degradan sarcosina representan importantes fuentes de unidades de un carbono. El $FADH_2$ se reoxida mediante la cadena de transporte de electrones (cap. 13).

Creatina y creatinina

La creatinina se forma en el músculo a partir del fosfato de creatina por medio de deshidratación no enzimática irreversible, y pérdida de fosfato (fig. 30-12); puesto que la excreción de creatinina en orina de 24 h es proporcional a la masa muscular, proporciona una medida de si se ha reunido un espécimen completo de orina de 24 h. La glicina, arginina y metionina participan en la biosíntesis de creatina. La síntesis de creatina se completa mediante metilación del guanidoacetato por la *S*-adenosilmetionina (fig. 30-12).

AMINOÁCIDOS NO α

Los que están presentes en los tejidos en una forma libre son β-alanina, β-aminoisobutirato y γ-aminobutirato (GABA). La β-alanina también está presente en forma combinada en la coenzima A (fig. 44-18) y en los β-alanil dipéptidos carnosina, anserina y homocarnosina (véase más adelante).

β-alanina y β-aminoisobutirato

Se forman durante el catabolismo de las pirimidinas uracilo y timidina, respectivamente (fig. 33-9). Asimismo, la hidrólisis de β-alanil dipéptidos por la enzima carnosinasa produce cantidades traza de β-alanina. El β-aminoisobutirato también surge por transaminación de metilmalonato semialdehído, un catabolito de la l-valina (fig. 29-23).

La reacción inicial del catabolismo de la β-alanina es la transaminación hacia malonato semialdehído. La transferencia subsiguiente de coenzima A desde la succinil-CoA forma malonil-CoA

FIGURA 30-10 Biosíntesis y metabolismo de la serotonina y la melatonina. ([NH_4^+], mediante transaminación; MAO, monoaminooxidasa; ~CH_3, proveniente de *S*-adenosilmetionina.)

semialdehído, que después se oxida hacia malonil-CoA y se descarboxila hacia el intermediario anfibólico acetil-CoA. Reacciones análogas caracterizan el catabolismo del β-aminoisobutirato. La transaminación forma metilmalonato semialdehído, que es convertido en el intermediario anfibólico succinil-CoA por las reacciones 8V y 9V de la figura 29-23. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas de la vía catabólica de pirimidina; entre ellos destacan los trastornos que se producen por una deficiencia total o parcial de dihidropirimidina deshidrogenasa (fig. 33-9).

β-alanil dipéptidos

Los β-alanil dipéptidos carnosina y anserina (*N*-metilcarnosina) (fig. 30-6) activan a la miosina ATPasa, producen quelación del cobre y aumentan la captación de este último. El β-alanil-imidazol amortigua

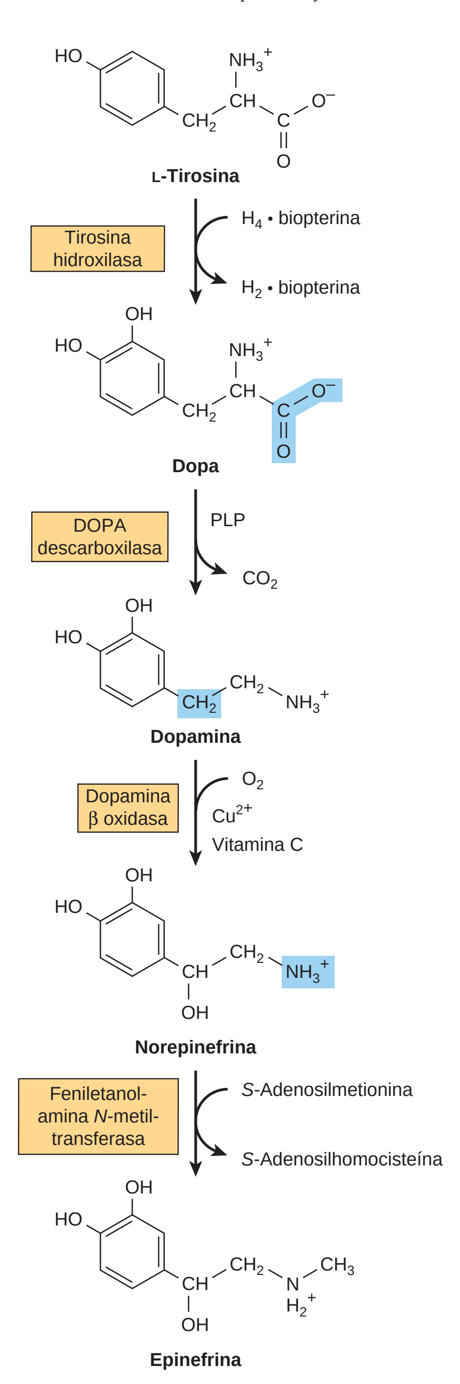


FIGURA 30-11 Conversión de tirosina en epinefrina y norepinefrina en células neuronales y suprarrenales (PLP, fosfato de piridoxal).

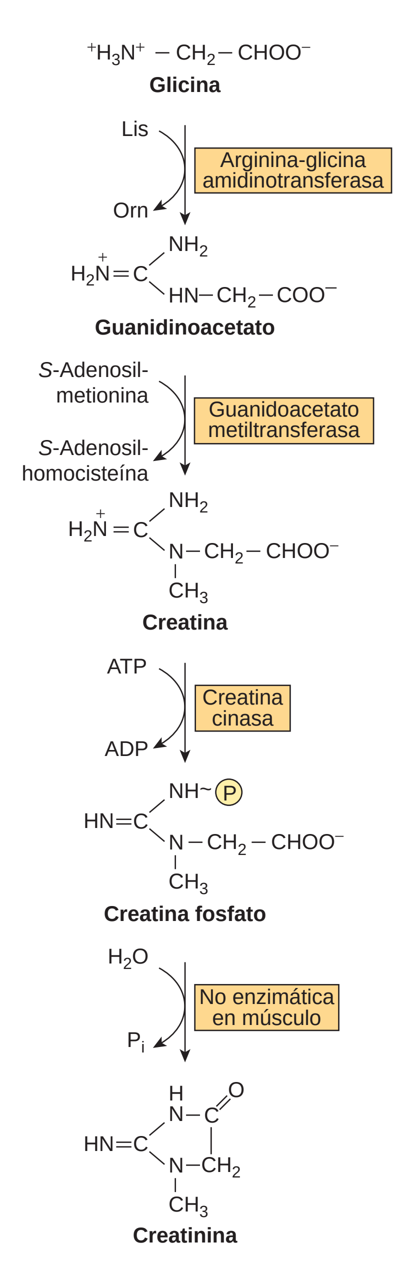


FIGURA 30-12 Biosíntesis de la creatina y creatinina. La conversión de glicina y el grupo guanidina de la arginina en creatina y creatina fosfato. También se muestra la hidrólisis no enzimática de creatina fosfato hacia creatina.

el pH de músculo estriado en contracción, de modo anaeróbico. La biosíntesis de carnosina es catalizada por la carnosina sintetasa en una reacción de dos etapas que comprende la formación inicial de un acil-adenilato de β-alanina unido a enzima, y la transferencia subsiguiente de la porción β-alanilo hacia l-histidina.

$$\text{ATP} + \beta\text{-alanina} \rightarrow \beta\text{-alanil-AMP} + \text{PP}_i$$

$$\beta\text{-alanil-AMP} + \text{L-histidina} \rightarrow \text{carnosina} + \text{AMP}$$

La carnosinasa cataliza la hidrólisis de la carnosina hacia β-alanina y l-histidina. El trastorno hereditario deficiencia de carnosinasa se caracteriza por **carnosinuria**.

La carnosina sintetasa sintetiza en el tejido cerebral la homocarnosina (fig. 30-6) presente en el cerebro de seres humanos a cifras más altas que la carnosina. La carnosinasa sérica no hidroliza a la homocarnosina. La **homocarnosinosis,** un raro trastorno genético, se relaciona con paraplejía espástica y retraso mental progresivos.

γ-Aminobutirato (GABA)

Funciona en el tejido cerebral como un neurotransmisor inhibidor al alterar diferencias de potencial transmembrana. El GABA se forma

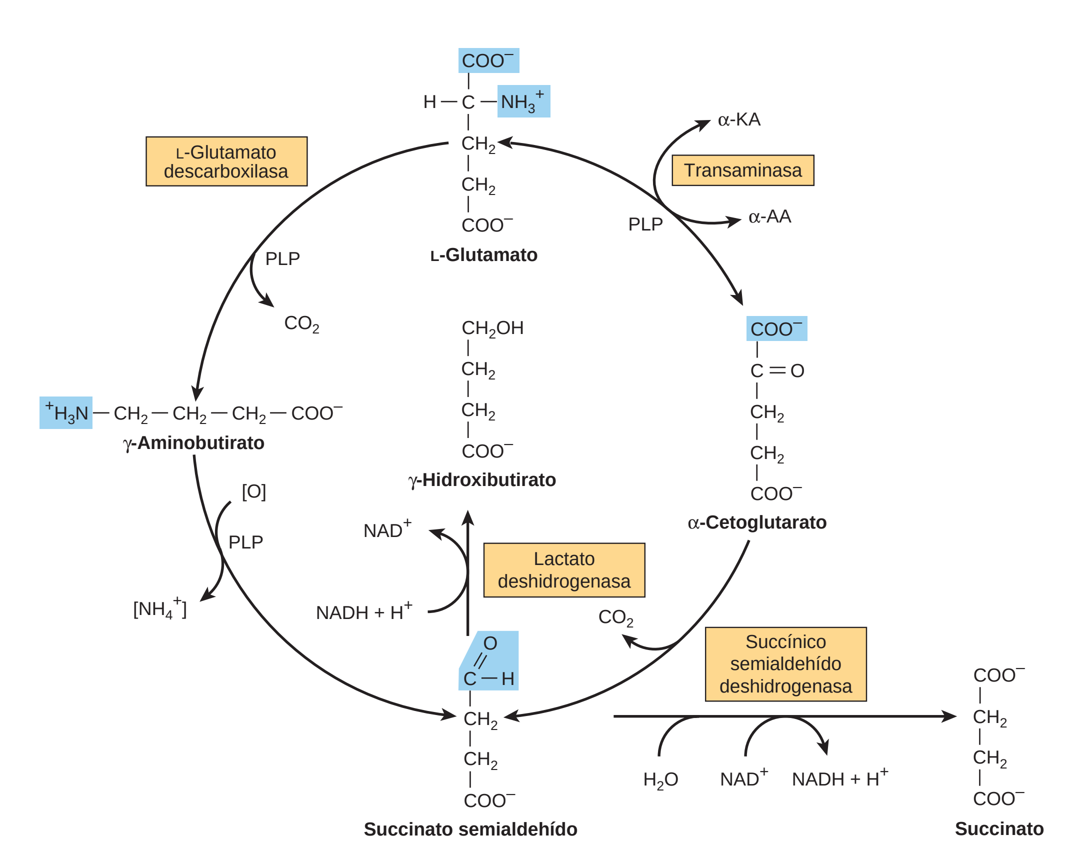


FIGURA 30-13 Metabolismo del γ-aminobutirato (α-KA, α-cetoácidos; α-AA, α-aminoácidos; PLP, fosfato de piridoxal).

por descarboxilación de glutamato por la l-glutamato descarboxilasa (fig. 30-13). La transaminación del γ-aminobutirato forma succinato semialdehído (fig. 30-13), que se puede reducir hacia γ-hidroxibutirato por medio de la l-lactato deshidrogenasa, u oxidar hacia succinato y desde allí, mediante el ciclo del ácido cítrico, hacia CO_2 y H_2O. Un raro trastorno genético del metabolismo del GABA incluye una GABA aminotransferasa defectuosa, una enzima que participa en el catabolismo del GABA luego de su liberación postsináptica en el tejido cerebral. Los defectos de la succínico semialdehído deshidrogenasa (fig. 30-13) producen otro raro trastorno metabólico del catabolismo del γ-aminobutirato caracterizado por **aciduria 4-hidroxibutírica**.

RESUMEN

- Además de desempeñar funciones estructurales y funcionales en las proteínas, los α-aminoácidos participan en una amplia variedad de otros procesos biosintéticos.
- La arginina proporciona el grupo formamidina de la creatina y el nitrógeno del NO. Por medio de la ornitina, la arginina proporciona al esqueleto de poliaminas putrescina, espermina y espermidina.
- La cisteína proporciona la porción tioetanolamina de la coenzima A, y después de su conversión en taurina, parte del ácido biliar ácido taurocólico.
- La glicina participa en la biosíntesis de hem, purinas, creatina y *N*-metilglicina (sarcosina). Muchos medicamentos y metabolitos de fármacos se excretan como conjugados de glicina, lo que incrementa la hidrosolubilidad para excreción urinaria.
- La descarboxilación de la histidina forma el neurotransmisor histamina. Los compuestos histidina presentes en el organismo humano comprenden ergotioneína, carnosina y anserina de la dieta.
- La *S*-adenosilmetionina, la principal fuente de grupos metilo en el metabolismo, contribuye con su esqueleto de carbono a la biosíntesis de las poliaminas espermina y espermidina.
- Además de sus funciones en la biosíntesis de fosfolípido y es ngosina, la serina proporciona los carbonos 2 y 8 de las purinas, y el grupo metilo de la timina.
- Los metabolitos clave del triptófano incluyen serotonina y melatonina. Los tejidos renal y hepático, y las bacterias fecales, convierten el triptófano en triptamina y, de allí, en indol 3-acetato. Los principales catabolitos del triptófano en la orina son el indol 3-acetato y el 5-hidroxiindolacetato.
- La tirosina forma norepinefrina y epinefrina, y luego de yodación las hormonas tiroideas triyodotironina y tiroxina.
- La interconversión catalizada por enzima, de las formas fosfo y desfosfo de serina, treonina y tirosina unidas a péptido desempeña funciones clave en la regulación metabólica, incluso transducción de señal.
- La glicina, arginina y *S*-adenosilmetionina participan en la biosíntesis de creatina, que como fosfato de creatina sirve como una importante reserva de energía en los tejidos muscular y cerebral. La excreción en la orina de su catabolito creatina es proporcional a la masa muscular.
- La β-alanina y el β-aminoisobutirato están presentes en los tejidos como aminoácidos libres. La β-alanina también se encuentra en forma unida en la coenzima A, carnosina, anserina y homocarnosina. El catabolismo de β-alanina comprende conversión por pasos en acetil-CoA. Reacciones análogas catabolizan el β-aminoisobutirato hacia succinil-CoA. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y

del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina.

- La descarboxilación de glutamato forma el neurotransmisor inhibidor GABA; dos raros trastornos metabólicos muestran vínculo con defectos del catabolismo del GABA.

REFERENCIAS

Conti M, Beavo J: Biochemistry and physiology of cyclic nucleotide phosphodiesterases: essential components in cyclic nucleotide signaling. Annu Rev Biochem 2007;76:481.

Dominy JE Jr et al: Synthesis of cysteine dioxygenase's amino acid cofactor is regulated by substrate and represents a novel post-translational regulation of activity. J Biol Chem 2008;283:12188.

Joseph CA, Maroney MJ: Cysteine dioxygenase: structure and mechanism. Chem Commun (Camb) 2007;28:3338.

Lindemose S, Nielsen PE, Mollegaard NE: Polyamines preferentially interact with bent adenine tracts in double -stranded DNA. Nucleic Acids Res 2005;33:1790.

Moinard C, Cynober L, de Bandt JP: Polyamines: metabolism and implications in human diseases. Clin Nutr 2005;24:184.

Pearl PL et al: The pediatric neurotransmitter disorders. J Child Neurol 2007;22:606.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Wu F et al: Inhibitory and structural studies of novel coenzyme-substrate analogs of human histidine decarboxylase. FASEB J 2008;22:890.

C A P Í T U L O

31

Porfirinas y pigmentos biliares

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se presentan las propiedades bioquímicas de las porfirinas y de los pigmentos biliares. Estos temas se encuentran estrechamente relacionados, porque el hem se sintetiza a partir de porfirinas y hierro, y los productos de degradación del hem son los pigmentos biliares y el hierro.

El conocimiento de las propiedades bioquímicas de las porfirinas y del hem es básico para entender las diversas funciones de las **hemoproteínas** (véase más adelante) en el organismo. Las **porfirias** son un grupo de enfermedades causadas por anormalidades de la vía de biosíntesis de las diversas porfirinas. Aun cuando las porfirias no son muy prevalecientes, es necesario que los médicos estén informados acerca de ellas. Un estado clínico mucho más prevaleciente es la **ictericia**, que se debe a aumento de la bilirrubina en el plasma; este incremento se debe a producción excesiva de bilirrubina o a falla de su excreción y se observa en muchas enfermedades que varían desde anemias hemolíticas, pasando por hepatitis viral, hasta cáncer de páncreas.

LAS METALOPORFIRINAS Y HEMOPROTEÍNAS SON IMPORTANTES EN LA NATURALEZA

Las porfirinas son compuestos cíclicos que se forman por el enlace de cuatro anillos pirrol mediante puentes de metino (═HC—) (fig. 31-1). Una propiedad típica de las porfirinas es la formación de complejos con iones metálicos unidos al átomo de nitrógeno de los anillos de pirrol. Los ejemplos son **porfirinas de hierro** como el **hem** de la hemoglobina, y la porfirina que contiene **magnesio**, **clorofila**, el pigmento fotosintético de los vegetales.

Las proteínas que contienen hem (hemoproteínas) están ampliamente distribuidas en la Naturaleza. El cuadro 31-1 lista ejemplos de su importancia en seres humanos y en animales.

Las porfirinas naturales tienen cadenas laterales sustituyentes en el núcleo de porfina

Las porfirinas que se encuentran en la Naturaleza son compuestos en los cuales los ocho átomos de hidrógeno numerados en el núcleo de porfirina se sustituyen por diversas **cadenas laterales** (fig. 31-1). Como un medio simple de mostrar estas sustituciones, Fischer propuso una fórmula abreviada en la cual los puentes de metileno se omiten y cada anillo pirrol se muestra como en la figura 31-2, con las ocho posiciones sustituyentes numeradas como se indica. En las figuras 31-2, 31-3 y 31-4 se representan diversas porfirinas.

Pirrol

Porfirina
($C_{20}H_{14}N_4$)

FIGURA 31-1 La molécula de porfirina. Los anillos están marcados como I, II, III y IV. Las posiciones sustituyentes en los anillos están marcadas como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8. Los puentes de metino (═HC—) están marcados como α, β, γ y δ. El sistema de numeración usado es el de Hans Fischer.

CUADRO 31-1 Ejemplos de algunas hemoproteínas importantes de seres humanos y animales[1]

Proteína	Función
Hemoglobina	Transporte de oxígeno en la sangre
Mioglobina	Almacenamiento de oxígeno en el músculo
Citocromo *c*	Participación en la cadena de transporte de electrones
Citocromo P450	Hidroxilación de xenobióticos
Catalasa	Degradación de peróxido de hidrógeno
Triptófano pirrolasa	Oxidación de triptófano

[1] Las funciones de las proteínas anteriores se describen en varios capítulos de este libro.

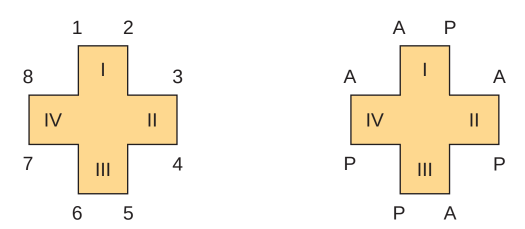


FIGURA 31-2 Uroporfirina III. (A [acetato] = —CH_2COOH; P [propionato] = —CH_2CH_2COOH.) Note la asimetría de los sustituyentes en el anillo IV (véase el texto).

La disposición de los sustituyentes acetato (A) y propionato (P) en la uroporfirina que se muestran en la figura 31-2 es asimétrica (en el anillo IV, el orden esperado de los sustituyentes A y P está invertido). Una porfirina con este tipo de **sustitución asimétrica** se clasifica como porfirina tipo III. Una porfirina con una disposición de los sustituyentes por completo simétrica se clasifica como porfirina tipo I. Sólo los tipos I y III se encuentran en la Naturaleza, y la serie tipo III es mucho más abundante (fig. 31-3) y de mayor importancia porque incluye el hem.

El hem y su precursor inmediato, la protoporfirina IX (fig. 31-4), son porfirinas tipo III (es decir, los grupos metilo están distribuidos de modo asimétrico, como en la coproporfirina tipo III). Sin embargo, a veces se identifican como pertenecientes a la serie IX, porque se designaron novenos en una serie de isómeros postulados por Hans Fischer, el investigador pionero en el campo de la química de la porfirina.

EL HEM SE SINTETIZA A PARTIR DE SUCCINIL-CoA Y GLICINA

El hem se sintetiza en células vivas por medio de una vía que se ha estudiado mucho. Los dos materiales iniciales son la **succinil-CoA**, derivada del ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias, y el aminoácido **glicina**. Durante esta reacción también se requiere fosfato de piridoxal para "activar" a la glicina. El producto de la reacción de condensación entre la succinil-CoA y la glicina es el ácido α-amino-β-cetoadípico, que se descarboxila con rapidez para formar α-aminolevulinato (ALA) (fig. 31-5). Esta secuencia de reacción es catalizada por la ALA sintasa, la enzima controladora en la biosíntesis de porfirina en el hígado de mamíferos. El ALA se sintetiza en las **mitocondrias**. En el citosol, la enzima **ALA deshidratasa** condensa dos moléculas de ALA para formar dos moléculas de agua y una de **porfobilinógeno** (PBG) (fig. 31-5). La ALA deshidratasa es una enzima que contiene zinc, y es sensible a la inhibición por **plomo**, como ocurre en la intoxicación por este último.

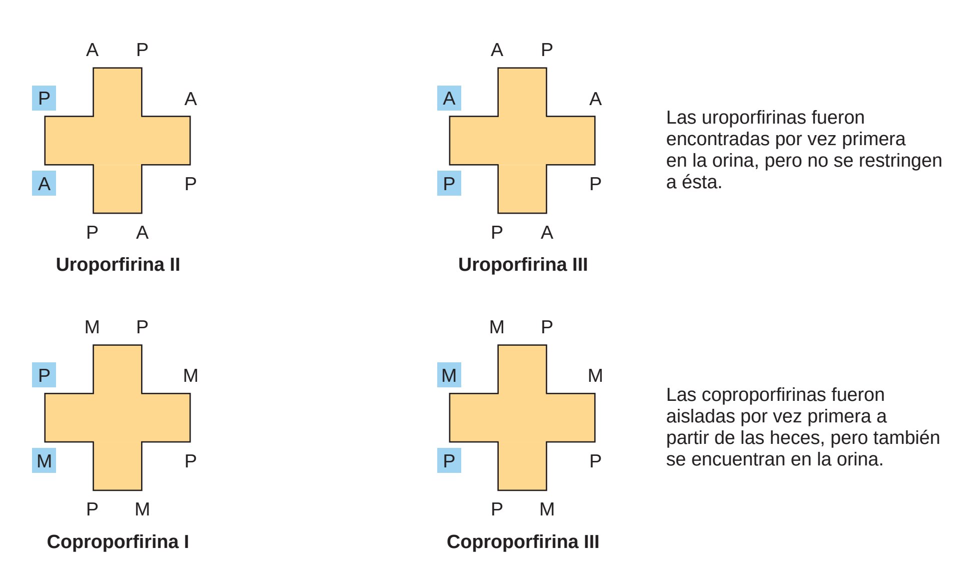


FIGURA 31-3 Uroporfirinas y coproporfirinas. (A, acetato; P, propionato; M, metilo.)

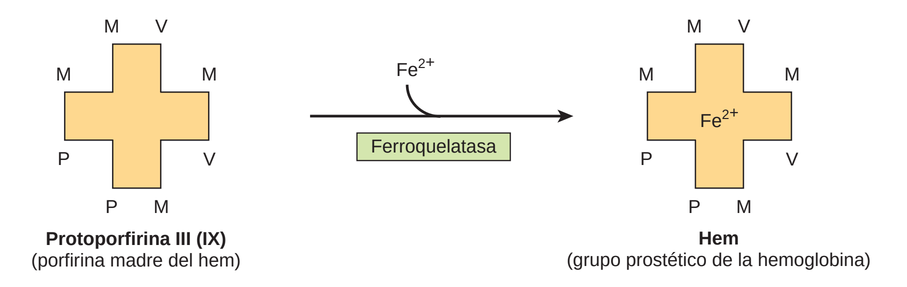


FIGURA 31-4 Adición de hierro a la protoporfirina para formar hem. (V [vinilo] = —CH=CH_2.)

FIGURA 31-5 Biosíntesis del porfobilinógeno. La ALA sintasa está presente en las mitocondrias, mientras que la ALA deshidratasa lo está en el citosol.

Un tetrapirrol cíclico —esto es, una porfirina— se forma por condensación de cuatro moléculas de PBG (fig. 31-6). Estas cuatro moléculas se condensan de una manera de cabeza a cola para formar un tetrapirrol lineal, el hidroximetilbilano (HMB). La uroporfirinógeno I sintasa, también denominada PBG desaminasa o HMB sintasa, cataliza la reacción. El HMB se cicliza de modo espontáneo para formar **uroporfirinógeno I** (lado izquierdo de la fig. 31-6), o la acción de la uroporfirinógeno III sintasa lo convierte en **uroporfirinógeno III** (lado derecho de la fig. 31-6). En circunstancias normales, el uroporfirinógeno formado es de manera casi exclusiva el isómero III, pero en ciertas porfirias (véase más adelante), existe formación excesiva de los isómeros tipo I de porfirinógenos.

Note que estos dos uroporfirinógenos tienen los anillos pirrol conectados por puentes de metileno (—CH_2—), que no forman un sistema de anillos conjugado. Así, estos compuestos son incoloros (como lo son todos los porfirinógenos). Empero, los porfirinógenos se autooxidan con facilidad hacia sus porfirinas coloreadas respectivas. Estas oxidaciones son catalizadas por la luz y por las porfirinas que se forman.

El uroporfirinógeno III se convierte en coproporfirinógeno III por descarboxilación de todos los grupos acetato (A), que los cambia a sustituyentes metilo (M). La reacción es catalizada por la **uroporfirinógeno descarboxilasa**, que también tiene la capacidad de convertir el uroporfirinógeno I en coproporfirinógeno I (fig. 31-7). El coproporfirinógeno III a continuación entra en las mitocondrias, donde es convertido en **protoporfirinógeno III** y después en **protoporfirina III**. Esta conversión comprende varios pasos. La enzima mitocondrial **coproporfirinógeno oxidasa** cataliza la descarboxilación y oxidación de dos cadenas laterales propiónicas para formar protoporfirinógeno. Esta enzima sólo tiene capacidad para actuar sobre el coproporfirinógeno III, lo cual explicaría por qué las protoporfirinas tipo I por lo general no se encuentran en la naturaleza. La oxidación del protoporfirinógeno hacia protoporfirina es catalizada por otra enzima mitocondrial, la **protoporfirinógeno oxidasa**. En el hígado de mamíferos, la conversión de coproporfirinógeno en protoporfirina necesita oxígeno molecular.

La formación de hem incluye la incorporación de hierro hacia protoporfirina

El paso final en la síntesis del hem comprende la incorporación de hierro ferroso hacia protoporfirina en una reacción catalizada por la **ferroquelatasa (hem sintasa)**, otra enzima mitocondrial (fig. 31-4).

En la figura 31-8 se resumen los pasos en la biosíntesis de los derivados de porfirina a partir de PBG. Las últimas tres enzimas en la vía y la ALA sintasa están localizadas en la mitocondria, mientras que las otras enzimas son citosólicas. Se encuentran formas de ALA sintasa tanto eritroides como no eritroides (de "administración de la casa"). El hem se biosintetiza en casi todas las células de mamífero, con la excepción de los eritrocitos maduros, que carecen de mitocondrias. Con todo, alrededor de 85% del hem se sintetiza en células precursoras eritroides en la **médula ósea** y la mayor parte del resto en **hepatocitos**.

Los porfirinógenos antes descritos son incoloros; contienen seis átomos de hidrógeno adicionales en comparación con las porfirinas coloreadas correspondientes. Estas **porfirinas reducidas** (los porfirinógenos) y no las porfirinas correspondientes son los intermediarios reales en la biosíntesis de la protoporfirina y del hem.

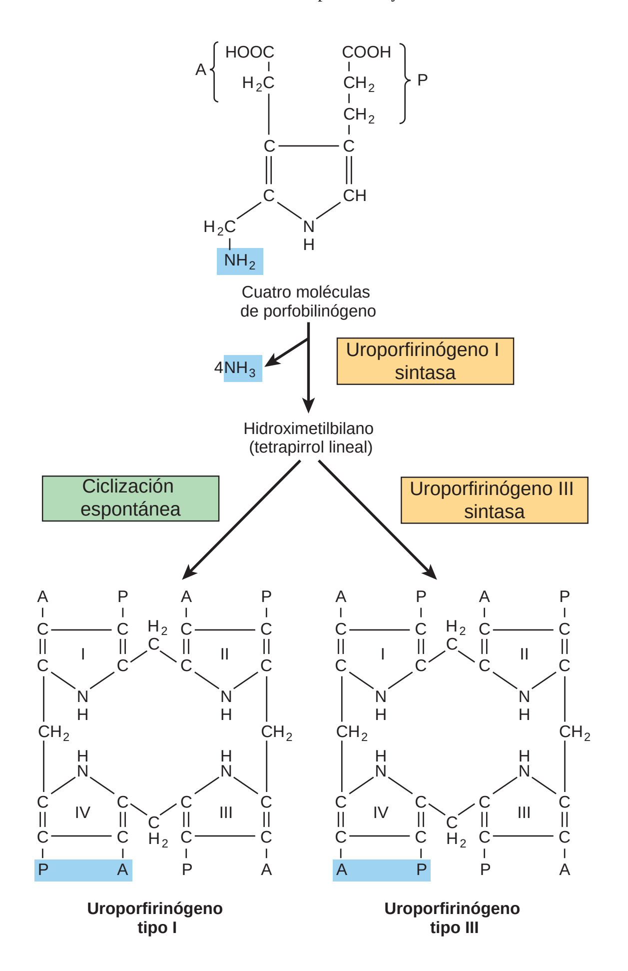


FIGURA 31-6 Conversión de porfobilinógeno en uroporfirinógenos. La uroporfirinógeno sintasa I también se llama porfobilinógeno (PBG) desaminasa o hidroximetilbilano (HMB) sintasa.

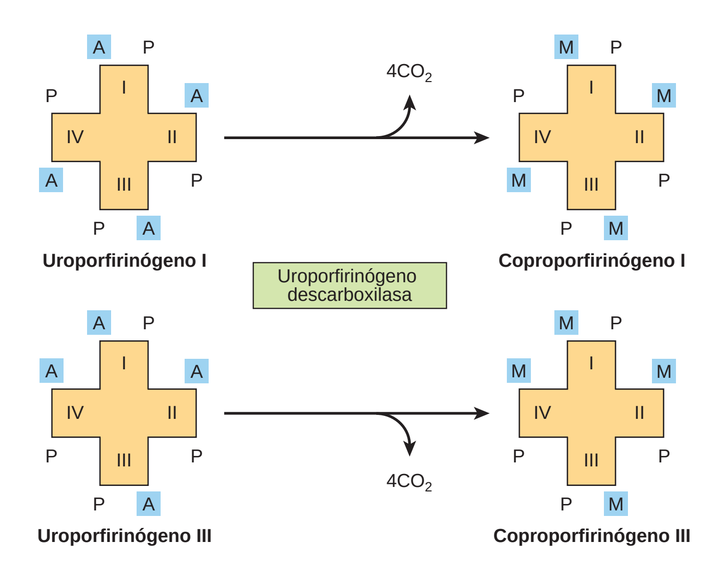


FIGURA 31-7 Descarboxilación de uroporfirinógenos hacia coproporfirinógenos en el citosol. (A, acetilo; M, metilo; P, propionilo.)

La ALA sintasa es la enzima reguladora clave en la biosíntesis hepática del hem

La **ALA sintasa** se encuentra en formas tanto hepática (ALAS1) como eritroide (ALAS2). La reacción limitante en la síntesis del hem en el hígado es la catalizada por ALAS1 (fig. 31-5), una enzima reguladora. Parece ser que el hem, quizá al actuar mediante una molécula aporrepresora, actúa como un regulador negativo de la síntesis de ALAS1. Este mecanismo de represión-desrepresión se describe en la figura 31-9. De este modo, el índice de síntesis de ALAS1 aumenta considerablemente en ausencia de hem, y está disminuido en su presencia. En circunstancias normales, el índice de recambio de ALAS1 en hígado de rata es rápido (vida media de aproximadamente 1 h), característica común de una enzima que cataliza una reacción limitante. El hem también afecta la traducción de la enzima y su transferencia desde el citosol hacia la mitocondria.

Muchos **fármacos**, cuando son administrados a seres humanos, pueden dar por resultado un incremento notorio de ALAS1. Casi todos estos medicamentos se metabolizan por medio de un sistema en el hígado que utiliza una hemoproteína específica, el **citocromo P450** (cap. 53). Durante su metabolismo, la utilización de hem por el citocromo P450 está muy aumentada, lo que a su vez disminuye la concentración intracelular de hem. Este último evento origina una desrepresión de ALAS1, con un índice incrementado correspondiente de síntesis del hem para satisfacer las necesidades de las células.

Varios factores influyen sobre la desrepresión de ALAS1 mediada por fármacos en el hígado; p. ej., la administración de glucosa puede evitarla, al igual que la administración de hematina (una forma oxidada de hem).

La importancia de algunos de estos mecanismos reguladores se comenta con mayor detalle más adelante cuando se describen las porfirias.

La regulación de la forma **eritroide** de la ALAS (ALAS2) difiere de la de ALAS1. Por ejemplo, no es inducida por los medicamentos que afectan a la ALAS1, y el hem no causa regulación de la misma por retroacción.

LAS PORFIRINAS TIENEN COLOR Y MUESTRAN FLUORESCENCIA

Los diversos porfirinógenos son incoloros, mientras que todas las diversas porfirinas son de color. En el estudio de porfirinas o de derivados de porfirina, el **espectro de absorción característico** que cada uno muestra —en las regiones tanto visible como ultravioleta del espectro— tiene gran valor. Un ejemplo es la curva de absorción para una solución de porfirina en ácido clorhídrico al 5% (fig. 31-10). Note en especial la banda de absorción aguda cerca de 400 nm, la cual es una característica distintiva del anillo de porfirina y es típica de todas las porfirinas, al margen de las cadenas laterales presentes. Dicha banda se denomina la **banda de Soret** en honor a su descubridor, el físico francés Charles Soret.

Cuando porfirinas disueltas en ácidos minerales fuertes o en solventes orgánicos se iluminan mediante luz ultravioleta, emiten una fuerte **fluorescencia** de color rojo, la cual es tan característica que suele usarse para detectar pequeñas cantidades de porfirinas libres. Los dobles enlaces que unen los anillos pirrol en las porfiri-

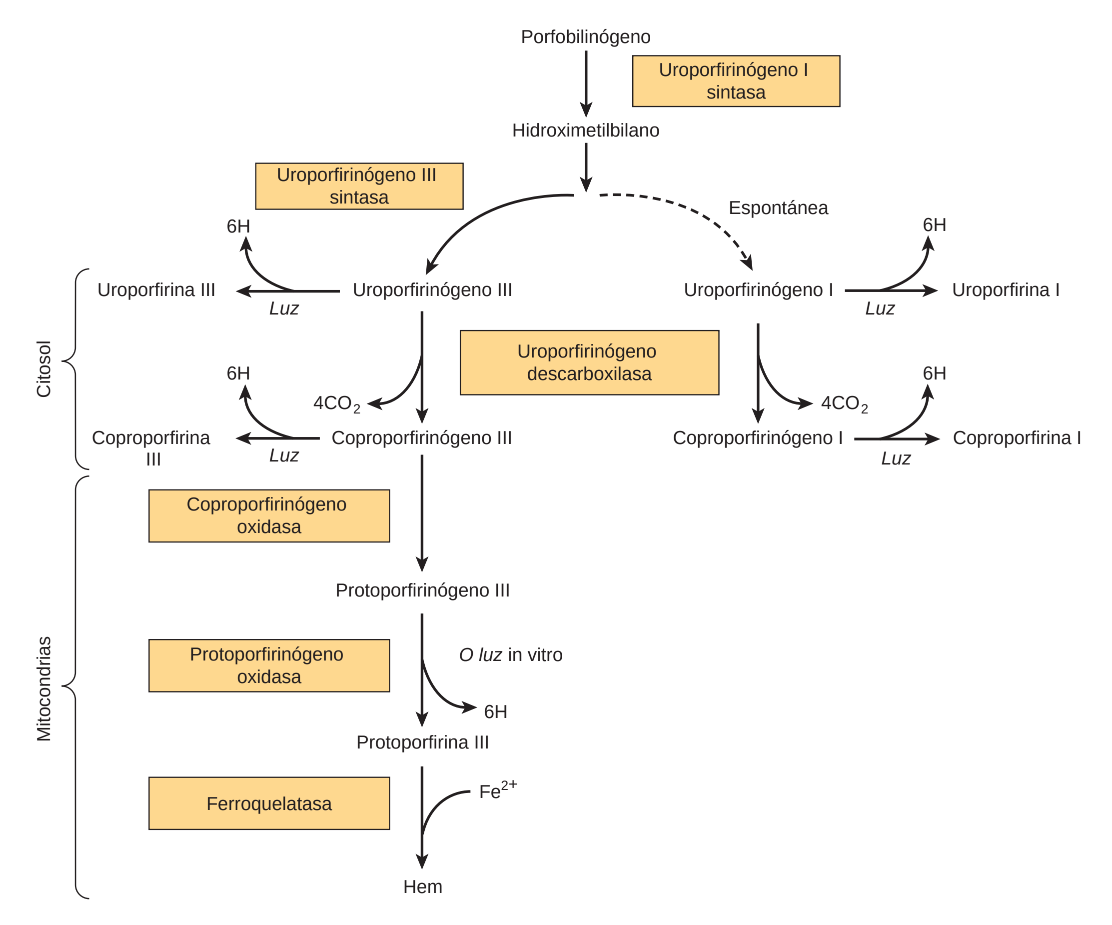


FIGURA 31-8 Pasos en la biosíntesis de los derivados de porfirina a partir del porfobilinógeno. La uroporfirinógeno I sintasa también se llama porfobilinógeno desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.

nas son la causa de la absorción y la fluorescencia típicas de estos compuestos; estos dobles enlaces no se encuentran en los porfirinógenos.

Una interesante posible aplicación de las propiedades fotodinámicas de las porfirinas es en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, procedimiento llamado **fototerapia de cáncer**. Los tumores a menudo captan más porfirinas que los tejidos normales. De esta manera, se administra hematoporfirina u otros compuestos vinculados a un paciente que tiene un tumor apropiado; a continuación se expone el tumor a un láser de argón, el cual excita las porfirinas y con ello suscita efectos citotóxicos.

La espectrofotometría se usa para efectuar pruebas para porfirinas y sus precursores

Las **coproporfirinas** y las **uroporfirinas** despiertan interés clínico porque se excretan en cantidades aumentadas en las porfirias. Estos compuestos, cuando están presentes en orina o heces, pueden separarse uno de otro por medio de extracción con mezclas solventes apropiadas. A continuación es posible identificarlos y cuantificarlos con métodos espectrofotométricos.

El **ALA** y el **PBG** también pueden medirse en la orina mediante pruebas colorimétricas apropiadas.

LAS PORFIRIAS SON TRASTORNOS GENÉTICOS DEL METABOLISMO DEL HEM

Las **porfirias** son un grupo de trastornos debidos a anormalidades de la vía de biosíntesis del hem; son genéticos o adquiridos. No son prevalecientes, pero es importante considerarlos en ciertas circunstancias (p. ej., en el diagnóstico diferencial de dolor en el abdomen y de diversos datos neuropsiquiátricos); de otro modo, los enfermos quedarán sujetos a tratamientos inapropiados. Se ha especulado que el rey Jorge III sufrió algún tipo de porfiria, lo que quizá explique sus confinamientos periódicos en el Castillo de Windsor, y tal vez algunas de sus opiniones respecto a los colonos americanos. Asimismo, la **fotosensibilidad** (que favorece actividades nocturnas) y la **desfiguración** grave mostradas por algunas víctimas de porfiria eritropoyética congénita han llevado a sugerir que estos individuos quizá hayan sido los prototipos de los denominados “hombres lobo”. No se ha presentado evidencia para apoyar esta noción.

La bioquímica fundamenta las causas, los diagnósticos y los tratamientos de las porfirias

Se han descrito seis tipos principales de **porfiria**, mismos que se producen por depresiones de las actividades de las enzimas 3 a 8 que

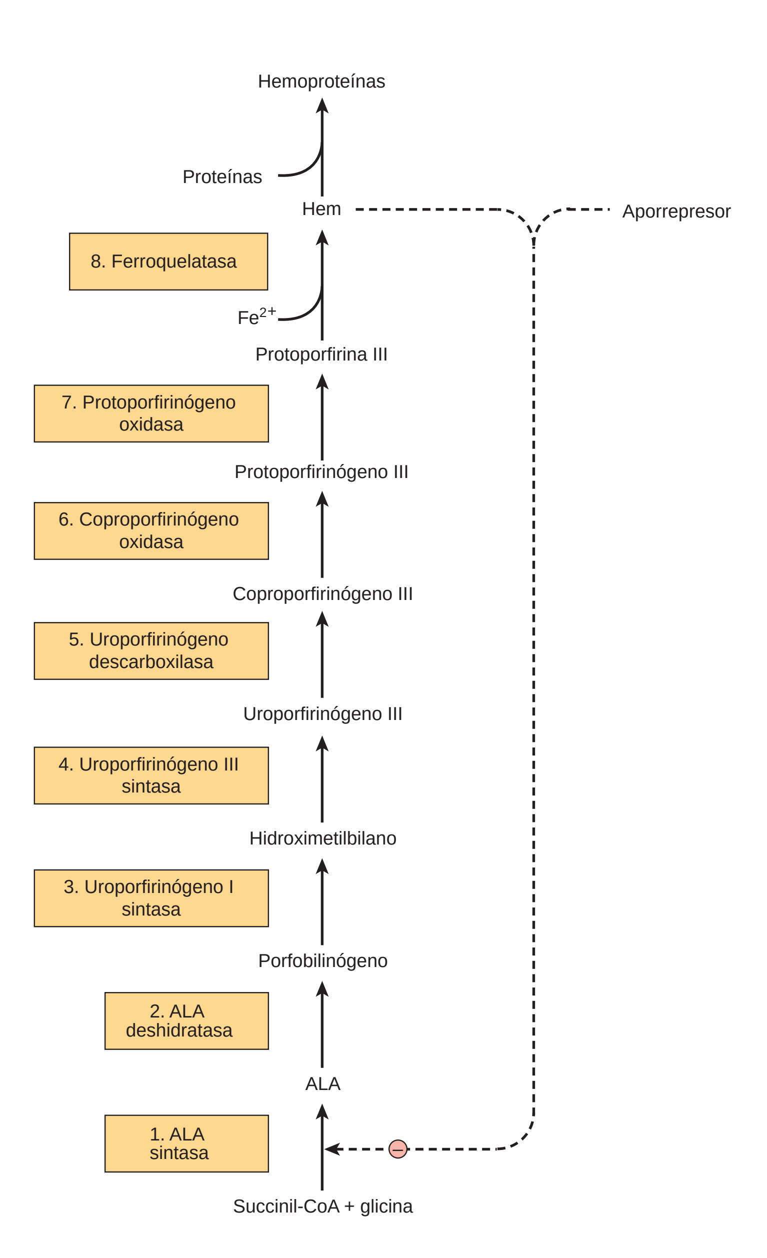


FIGURA 31-9 Intermediarios, enzimas y regulación de la síntesis del hem. Los números de enzima son aquellos a los que se hace referencia en la columna 1 del cuadro 31-2. Las enzimas 1, 6, 7 y 8 están localizadas en las mitocondrias, y las otras en el citosol. Las mutaciones del gen que codifica para la enzima 1 producen anemia sideroblástica ligada a X. Las mutaciones de los genes que codifican para las enzimas 2 a 8 ocasionan las porfirias, aunque sólo se han informado algunos casos debidos a deficiencia de la enzima 2. La síntesis hepática de hem se regula en la ALA sintasa (ALAS1) por medio de un mecanismo de represión-desrepresión mediado por hem y su aporrepresor hipotético. Las líneas punteadas indican la regulación negativa (−) por represión. La enzima 3 también recibe el nombre de porfobilinógeno desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.

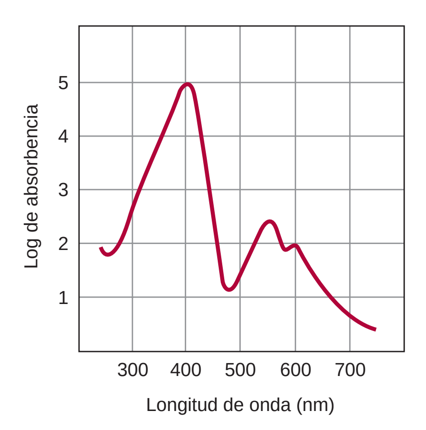


FIGURA 31-10 Espectro de absorción de la hematoporfirina (solución al 0.01% en HCl al 5%).

se muestran en la figura 31-9 (véase también el cuadro 31-2). Así, la valoración de la actividad de una o más de estas enzimas usando una fuente apropiada (p. ej., eritrocitos) tiene importancia para hacer un diagnóstico definitivo de un caso sospechado de porfiria. Los sujetos con actividades bajas de la enzima 1 (ALAS2) presentan anemia, no porfiria (cuadro 31-2). Se ha informado la existencia de pacientes con actividad baja de la enzima 2 (ALA deshidratasa), pero muy rara vez; la enfermedad resultante recibe el nombre de porfiria con deficiencia de ALA deshidratasa.

En general, las porfirias descritas se **heredan** de una manera autosómica dominante, con la excepción de la porfiria eritropoyética congénita, cuya herencia es recesiva. Las anormalidades precisas en los genes que dirigen las síntesis de las enzimas afectadas en la biosíntesis del hem se han determinado en algunos casos. De este modo, el uso de sondas de gen apropiadas ha hecho posible el diagnóstico prenatal de algunas de las porfirias.

Como sucede con casi todos los **errores congénitos**, los signos y síntomas de porfiria se producen por una deficiencia de productos metabólicos más allá del bloqueo enzimático, o por una acumulación de metabolitos detrás del bloqueo.

Si la lesión enzimática ocurre al **principio** de la vía, antes de la formación de porfirinógenos (p. ej., enzima 3 de la fig. 31-9, que está afectada en la porfiria intermitente aguda), se acumularán ALA y

CUADRO 31-2 Resumen de los datos importantes en las porfirias[1]

Enzima incluida[2]	Tipo, clase y número de OMIM	Signos y síntomas importantes	Resultados de análisis de laboratorio
1. ALA sintasa (forma eritroide)	Anemia sideroblástica ligada a X[3] (eritropoyética) (OMIM 301300)	Anemia	Recuento eritrocítico y cifras de hemoglobina disminuidos
2. ALA deshidratasa	Deficiencia de ALA deshidratasa (hepática) (OMIM 125270)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y coproporfirina III urinarias aumentadas
3. Uroporfirinógeno I sintasa[4]	Porfiria intermitente aguda (hepática) (OMIM 176000)	Dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA y PBG urinarios aumentados
4. Uroporfirinógeno III sintasa	Eritropoyética congénita (eritropoyética) (OMIM 263700)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria, fecal y eritrocítica aumentada
5. Uroporfirinógeno descarboxilasa	Porfiria cutánea *tarda* (hepática) (OMIM 176100)	Fotosensibilidad	Uroporfirina I urinaria aumentada
6. Coproporfirinógeno oxidasa	Coproporfiria hereditaria (hepática) (OMIM 121300)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarias, y coproporfirina III fecal, aumentados
7. Protoporfirinógeno oxidasa	Porfiria *variegata* (hepática) (OMIM 176200)	Fotosensibilidad, dolor abdominal, síntomas neuropsiquiátricos	ALA, PBG y coproporfirina III urinarias, y protoporfirina IX fecal aumentados
8. Ferroquelatasa	Protoporfiria (eritropoyética) (OMIM 177000)	Fotosensibilidad	Protoporfirina IX fecal y de eritrocitos aumentada

Abreviaturas: ALA, ácido δ-aminolevulínico; PBG, porfobilinógeno; OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man.
[1]Sólo se listan los datos bioquímicos en las etapas activas de estas enfermedades. Ciertas anormalidades bioquímicas son detectables durante las etapas latentes de algunas de las enfermedades antedichas. Las enfermedades 3, 5 y 8 en general son las por rias más prevalecientes. La enfermedad 2 es rara.
[2]La numeración de las enzimas en este cuadro corresponde a la usada en la gura 31-9.
[3]La anemia sideroblástica ligada a X no es una por ria pero se incluye aquí porque hay afección de la ALA sintasa.
[4]Esta enzima también se llama PBG desaminasa o hidroximetilbilano sintasa.

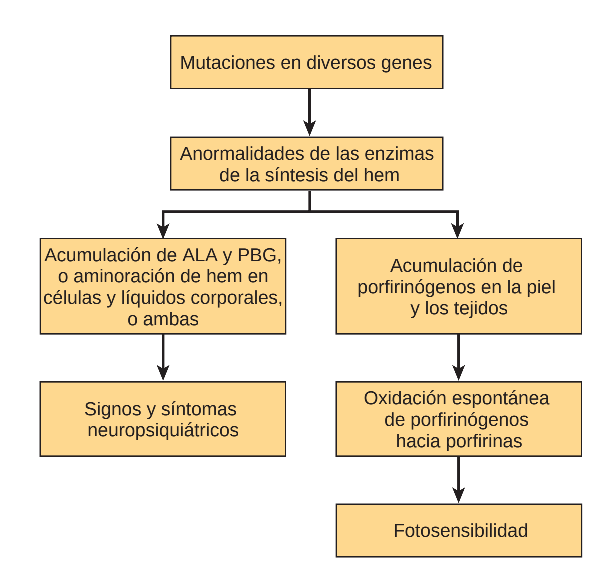


FIGURA 31-11 Causas bioquímicas de los principales signos y síntomas de las porfirias.

PBG en los tejidos y líquidos corporales (fig. 31-11). Desde el punto de vista clínico, los enfermos se quejan de dolor en el abdomen y síntomas neuropsiquiátricos. No se ha determinado la causa bioquímica exacta de estos síntomas, pero tal vez se relacionen con cifras altas de ALA o PBG, o con una deficiencia de hem.

Por otra parte, los bloqueos enzimáticos **más adelante** en la vía dan por resultado la acumulación de los porfirinógenos indicados en las figuras 31-9 y 31-11. Sus productos de oxidación, los derivados porfirina correspondientes, originan **fotosensibilidad**, una reacción a la luz visible de alrededor de 400 nm. Se cree que cuando las porfirinas quedan expuestas a luz de esta longitud de onda se "excitan" y luego reaccionan con oxígeno molecular para formar radicales de oxígeno. Estas últimas especies lesionan lisosomas y otros organelos. Los lisosomas dañados liberan sus enzimas degradantes, lo que causa grados variables de daño cutáneo, incluso formación de tejido cicatrizal.

Las porfirias se **clasifican** con base en los órganos o las células más afectados; estos últimos por lo regular son órganos o células en los cuales la síntesis de hem es en particular activa. La médula ósea sintetiza cantidades considerables de hemoglobina, y el hígado es activo en la síntesis de otra hemoproteína, el citocromo P450. De este modo, una clasificación de las porfirias las designa como predominantemente **eritropoyéticas** o **hepáticas**; en el cuadro 31-2 se caracterizan así los tipos de porfirias que caen dentro de estas dos clases. Las porfirias también pueden clasificarse como **agudas** o **cutáneas** con base en sus características clínicas. ¿Por qué tipos específicos de porfiria afectan a ciertos órganos de manera más notoria que a otros? Una respuesta parcial es que las concentraciones de metabolitos que suscitan daño (p. ej., ALA, PBG, porfirinas específicas o falta de hem) pueden variar de modo notorio en diferentes órganos o células dependiendo de las actividades que difieren de sus enzimas formadoras de hem.

Como se describió, la **ALAS1** es la enzima reguladora clave de la vía biosintética del hem en el hígado. Muchos **fármacos** (p. ej., barbitúricos, griseofulvina) la inducen. Casi todos estos medicamentos lo hacen al inducir el citocromo P450 (cap. 53), que usa hem y, así, desreprime (induce) a la ALAS1. En individuos con porfiria,

las actividades incrementadas de ALAS1 producen cifras aumentadas de precursores en potencia perjudiciales antes del bloqueo metabólico. De esta manera, la ingestión de fármacos que ocasionan inducción del citocromo P450 (los llamados inductores microsómicos) puede precipitar ataques de porfiria.

El **diagnóstico** de un tipo específico de porfiria en general puede establecerse al considerar los antecedentes clínicos y familiares, el examen físico, y análisis de laboratorio apropiados. El cuadro 31-2 lista los datos importantes en los seis tipos principales de porfiria.

Las concentraciones altas de **plomo** pueden afectar el metabolismo del hem al combinarse con grupos SH en enzimas como la ferroquelatasa y la ALA deshidratasa, lo cual afecta al metabolismo de las porfirinas. Hay cifras altas de protoporfirina en los eritrocitos, así como de ALA y coproporfirina en la orina.

Se espera que el **tratamiento** de las porfirias en el ámbito de gen llegue a ser posible; entre tanto, el tratamiento en esencia es sintomático. Es importante que los pacientes eviten los fármacos que dan por resultado inducción del citocromo P450. La ingestión de cantidades grandes de carbohidratos (carga de glucosa) o la administración de hematina (un hidróxido de hem) puede reprimir la ALAS1, lo que origina menor producción de precursores de hem perjudiciales. Los pacientes que muestran fotosensibilidad se benefician a partir de la administración de β-caroteno, que parece disminuir la producción de radicales libres, lo que aminora la fotosensibilidad. Las pantallas solares que filtran luz visible también suelen ser útiles para esos enfermos.

EL CATABOLISMO DEL HEM PRODUCE BILIRRUBINA

En condiciones fisiológicas en el adulto humano, cada hora se destruyen 1 a 2×10^8 eritrocitos. De este modo, en un día, un ser humano de 70 kg recambia cerca de 6 g de hemoglobina. Cuando la hemoglobina se destruye en el cuerpo, la **globina** se degrada hacia los aminoácidos que la constituyen, mismos que se vuelven a emplear, y el **hierro** del hem entra al fondo común de hierro, también para que se vuelva a usar. La porción **porfirina** libre de hierro del hem también se degrada, principalmente en las células reticuloendoteliales del hígado, el bazo y la médula ósea.

El catabolismo del hem a partir de todas las proteínas hem parece llevarse a cabo en las fracciones microsómicas de células mediante un sistema enzimático complejo denominado **hem oxigenasa**. Para el momento en que el hem derivado de proteínas llega al sistema de oxigenasa, el hierro por lo general se ha oxidado hacia la forma férrica, lo que constituye la **hemina**. El sistema de hem oxigenasa es inducible por sustrato. La hemina se reduce a hem con NADPH y, con la ayuda de más NADPH, se añade oxígeno al puente de α-metino entre los pirroles I y II de la porfirina (fig. 31-12). El hierro ferroso se oxida de nuevo hacia la forma férrica. Con la adición de oxígeno se libera **ion férrico**, y se **producen monóxido de carbono,** y una cantidad equimolar de **biliverdina** por la división del anillo tetrapirrol.

En aves y anfibios, la biliverdina IX de color verde se excreta; en mamíferos, una enzima soluble llamada **biliverdina reductasa** reduce el puente de metino entre los pirroles III y IV hacia un grupo metileno para producir **bilirrubina**, un pigmento de color amarillo (fig. 31-12).

Se estima que 1 g de hemoglobina da 35 mg de bilirrubina. En humanos adultos cada día se forman alrededor de 250 a 350 mg de bilirrubina, derivada principalmente de la hemoglobina, pero también de eritropoyesis ineficaz y de varias otras proteínas hem, como el citocromo P450.

La conversión química de hem en bilirrubina por las células reticuloendoteliales puede observarse *in vivo* conforme el color púrpura del hem en un hematoma se convierte con lentitud en el pigmento amarillo de la bilirrubina.

La albúmina plasmática **transporta hacia el hígado** la bilirrubina formada en tejidos periféricos. El **metabolismo adicional** de la bilirrubina sucede principalmente en el hígado. Se divide en tres procesos: 1) captación de bilirrubina por las células parenquimatosas del hígado; 2) conjugación de bilirrubina con glucuronato en el retículo endoplásmico, y 3) secreción de bilirrubina conjugada hacia la bilis. Cada uno de estos procesos se considerará por separado.

EL HÍGADO CAPTA BILIRRUBINA

La bilirrubina sólo es un **poco hidrosoluble** en agua, pero la unión no covalente a albúmina incrementa su solubilidad en el plasma. Cada molécula de albúmina parece tener un sitio de alta afinidad y uno de baja afinidad por bilirrubina. En 100 ml de plasma, cerca de 25 mg de bilirrubina pueden estar estrechamente unidos a albúmina en su sitio de afinidad alta. La bilirrubina que excede esta cantidad sólo puede unirse de manera laxa y, así, se puede desprender y difundir con facilidad hacia los tejidos. Varios compuestos, como los antibióticos y otros fármacos, compiten con la bilirrubina por el sitio de alta afinidad en la albúmina. Así, estos compuestos pueden desplazar a la bilirrubina desde la albúmina, y tienen efectos clínicos importantes.

En el hígado, la bilirrubina se separa de la albúmina y se capta en la superficie sinusoidal de los hepatocitos por medio de un sistema saturable mediado por acarreador. Este **sistema de transporte facilitado** tiene capacidad muy grande, de manera que incluso en condiciones patológicas no parece ser limitante en el metabolismo de la bilirrubina.

Dado que dicho sistema permite el equilibrio de bilirrubina a través de la membrana sinusoidal del hepatocito, la captación neta de bilirrubina dependerá de la eliminación de esta última por medio de vías metabólicas subsiguientes.

Una vez que la bilirrubina entra en los hepatocitos, es posible su unión **a ciertas proteínas citosólicas**, que ayudan a mantenerla solubilizada antes de la conjugación. La ligandina (un miembro de la familia de las glutatión *S*-transferasas) y la proteína Y son las proteínas involucradas. También pueden ayudar a prevenir el flujo de salida de bilirrubina de regreso hacia el torrente sanguíneo.

La bilirrubina se conjuga con ácido glucurónico en el hígado

La bilirrubina es **no polar** y persistiría en las células (p. ej., unida a lípidos) si no se hiciera hidrosoluble. Al añadirle moléculas de ácido glucurónico, los hepatocitos convierten la bilirrubina en una forma **polar**, que se excreta con facilidad en la bilis. Este proceso se llama **conjugación**, y puede emplear otras moléculas polares que no son ácido glucurónico (p. ej., sulfato). Muchas hormonas y medicamen-

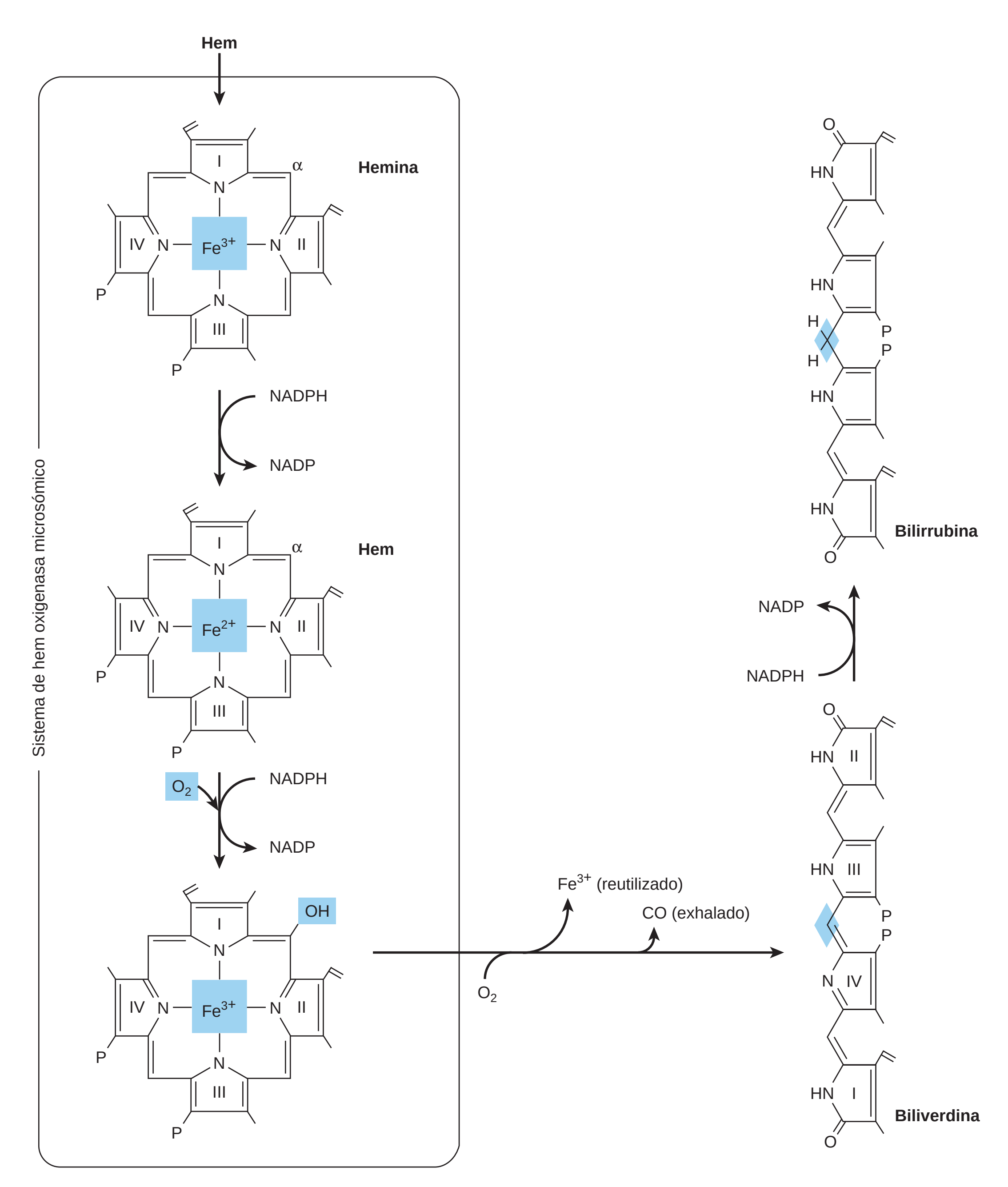


FIGURA 31-12 Representación esquemática del sistema de hem oxigenasa microsómico. (Modificada, con autorización, de Schmid R, McDonough AF en: *The Porphyrins.* Dolphin D [edi.]. Academic Press, 1978. Copyright ©1978. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

tos esteroides también se convierten en derivados hidrosolubles por medio de conjugación en preparación para excreción (cap. 52).

La conjugación de bilirrubina es catalizada por una **glucuronosiltransferasa** específica. La enzima está localizada principalmente en el retículo endoplásmico, usa ácido UDP-glucurónico como donador de glucuronósilo, y se denomina bilirrubina-UGT. El monoglucurónido de bilirrubina es un intermediario, y después se convierte en el diglucurónido (figs. 31-13 y 31-14). Casi toda la bilirrubina que se excreta en la bilis de mamíferos está en la forma de diglucurónido de bilirrubina. Aun así, cuando conjugados de bilirrubina existen de modo anormal en el plasma de seres humanos (p. ej., en la ictericia obstructiva), son predominantemente monoglucurónidos. Diversos fármacos útiles en clínica son capaces de **inducir** la actividad de la bilirrubina-UGT, entre ellos el fenobarbital. En la exposición, más adelante, respecto a trastornos hereditarios de la conjugación de la bilirrubina se presenta más información sobre la glucuronosilación.

La bilirrubina se secreta hacia la bilis

La bilirrubina conjugada se **secreta** hacia la bilis por medio de un mecanismo de transporte activo, que probablemente es limitante

FIGURA 31-13 Estructura del diglucurónido de bilirrubina (bilirrubina conjugada, "de reacción directa"). El ácido glucurónico está fijo mediante enlace éster a los dos grupos de ácido propiónico de la bilirrubina para formar un acilglucurónido.

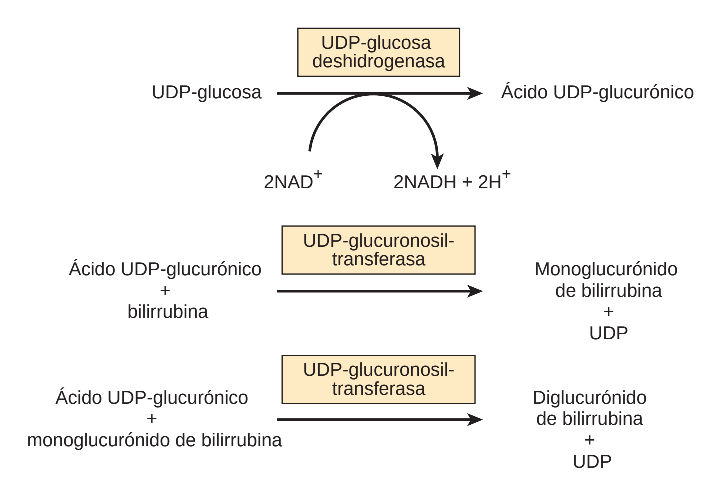


FIGURA 31-14 Conjugación de bilirrubina con ácido glucurónico. El donador de glucuronato, ácido UDP-glucurónico, se forma a partir de UDP-glucosa como se describe. La UDP-glucuronosiltransferasa también se llama bilirrubina-UGT.

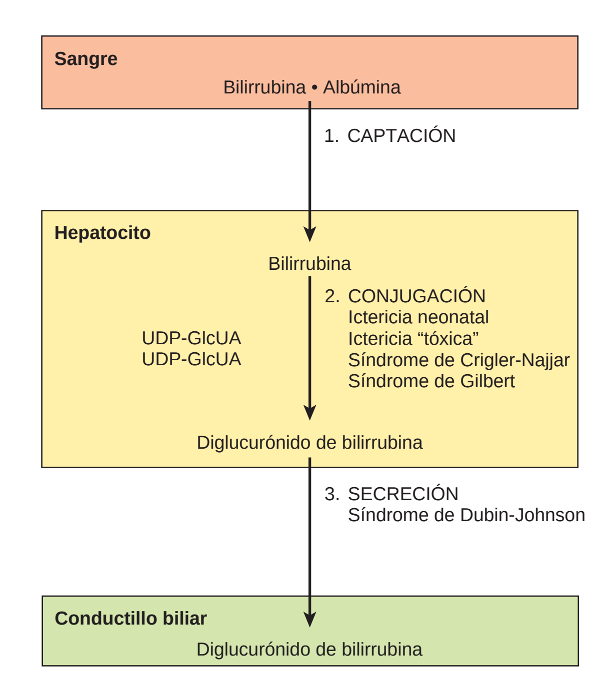


FIGURA 31-15 Diagrama que representa los tres procesos principales (captación, conjugación y secreción) comprendidos en la transferencia de bilirrubina desde la sangre hacia la bilis. Ciertas proteínas de los hepatocitos, como la ligandina (un miembro de la familia de enzimas glutatión *S*-transferasa) y la proteína Y, se unen a la bilirrubina intracelular y pueden evitar su flujo de salida hacia el torrente sanguíneo. También se muestra el proceso afectado en diversas enfermedades que originan ictericia.

para todo el proceso del metabolismo hepático de la bilirrubina. La proteína involucrada es la MRP-2 (proteína parecida a la de resistencia a múltiples fármacos 2), también denominada transportador de anión orgánico multiespecífico (MOAT). Se localiza en la membrana plasmática de la membrana de los canalículos biliares, y maneja varios aniones orgánicos. Es un miembro de la familia de los transportadores de casete de unión a ATP (ABC). El transporte hepático de bilirrubina conjugada hacia la bilis es inducible por los fármacos que tienen la capacidad de inducir la conjugación de bilirrubina. De esta manera, los sistemas de conjugación y excreción para bilirrubina se comportan como una unidad funcional coordinada.

En la figura 31-15 se resumen los tres procesos principales incluidos en la *transferencia de bilirrubina* desde la sangre hacia la bilis. También se indican los sitios afectados en diversas enfermedades que dan por resultado ictericia (véase más adelante).

Las bacterias intestinales reducen la bilirrubina conjugada hacia urobilinógeno

A medida que la bilirrubina conjugada llega al íleon terminal y el intestino grueso, enzimas bacterianas específicas **(β-glucuronidasas)** eliminan los glucurónidos, y luego la flora fecal **reduce** el pigmento hacia un grupo de compuestos tetrapirrólicos incoloros llamados **urobilinógenos**. En el íleon terminal y el intestino grueso, una pequeña fracción de los urobilinógenos se resorbe y se vuelve a excretar por medio del hígado para constituir el **ciclo enterohepático del urobilinógeno**. En condiciones anormales, en especial cuando se forma pigmento biliar excesivo o la enfermedad hepática interfiere con este ciclo intrahepático, el urobilinógeno también puede excretarse en la orina.

En circunstancias normales, la mayor parte de los urobilinógenos incoloros formados en el colon por la flora fecal se oxida ahí hacia urobilinas (compuestos coloreados), y se excreta en las heces. El oscurecimiento de las heces expuestas al aire se debe a la oxidación de urobilinógenos residuales hacia urobilinas.

LA HIPERBILIRRUBINEMIA ORIGINA ICTERICIA

Cuando la bilirrubina en sangre excede 1 mg/dl (17.1 μmol/L), existe **hiperbilirrubinemia**, la cual quizá se deba a la producción de más bilirrubina de la que el hígado normal puede excretar, o al fracaso de un hígado dañado para excretar bilirrubina producida en cantidades normales. En ausencia de daño hepático, la obstrucción de los conductos excretores del hígado —al impedir la excreción de bilirrubina— también suscitará hiperbilirrubinemia. En todas estas

situaciones, se acumula bilirrubina en sangre, y cuando alcanza una cierta concentración (alrededor de 2 a 2.5 mg/dl) se difunde hacia los tejidos, que entonces adoptan un color amarillo. Ese estado recibe el nombre de **ictericia**.

En estudios clínicos de ictericia, la medición de la bilirrubina en el suero tiene gran valor. El primer método para valorar de modo cuantitativo el contenido de bilirrubina del suero fue ideado por **Van den Bergh**, mediante la aplicación de la **prueba de Ehrlich** para bilirrubina en la orina. La reacción de Ehrlich se basa en el acoplamiento de ácido sulfanílico diazotizado (reactivo diazo de Ehrlich) y bilirrubina para producir un compuesto azo de color púrpura-rojizo. En el procedimiento original descrito por Ehrlich, se usó metanol para proporcionar una solución en la cual fueron solubles tanto la bilirrubina como el reactivo diazo. Van den Bergh omitió de manera inadvertida el metanol en una ocasión cuando estaba intentando valorar el pigmento biliar en bilis humana. Para su sorpresa, la aparición normal del color ocurrió “de modo directo”. Así, esta forma de bilirrubina que reaccionaría sin la adición de metanol se llamó **“de reacción directa”**. Después se encontró que esta misma reacción directa también sucedía en suero de individuos con ictericia debida a obstrucción biliar. Comoquiera que sea, aún fue necesario añadir metanol para detectar bilirrubina en el suero normal o la que estuvo presente en exceso en el suero de sujetos con ictericia hemolítica en los cuales no se halló evidencia de obstrucción. A esa forma de bilirrubina que sólo podía medirse luego de la adición de metanol, se aplicó el término **“de reacción indirecta”**.

Después se descubrió que la **bilirrubina indirecta es bilirrubina “libre”** (no conjugada) en ruta al hígado desde los tejidos reticuloendoteliales, donde la bilirrubina se produjo originalmente por la desintegración de porfirinas hem. Puesto que esta bilirrubina no es hidrosoluble, requiere metanol para iniciar el acoplamiento con el reactivo diazo. En el hígado, la bilirrubina libre se conjuga con ácido glucurónico, y el conjugado, predominantemente diglucurónido de bilirrubina, puede excretarse entonces hacia la bilis. Además, la bilirrubina conjugada, al ser hidrosoluble, puede reaccionar de manera directa con el reactivo diazo, de modo que la “bilirrubina directa” de Van den Bergh en realidad es un conjugado de bilirrubina (glucurónido de bilirrubina).

Dependiendo del tipo de bilirrubina presente en el plasma —es decir, conjugada o no conjugada— la hiperbilirrubinemia se clasifica como **hiperbilirrubinemia por retención**, debida a producción excesiva, o **hiperbilirrubinemia por regurgitación**, debida a reflujo hacia el torrente sanguíneo por obstrucción biliar.

La bilirrubina no conjugada y la especie conjugada se pueden separar y cuantificar usando cromatografía líquida de alta presión.

Debido a su hidrofobicidad, únicamente la bilirrubina no conjugada puede cruzar la barrera hematoencefálica hacia el sistema nervioso central; de esta manera, la encefalopatía debida a hiperbilirrubinemia **(kernícterus)** sólo puede ocurrir en relación con bilirrubina no conjugada, como se encuentra en la hiperbilirrubinemia por retención. Por otra parte, debido a su hidrosolubilidad, únicamente la bilirrubina conjugada puede aparecer en la orina. En consecuencia, la **ictericia colúrica** (coluria es la presencia de pigmentos biliares en la orina) sólo sucede en la hiperbilirrubinemia por regurgitación, y la **ictericia acolúrica** únicamente ocurre en presencia de un exceso de bilirrubina no conjugada.

En diversas enfermedades hay cantidades altas de bilirrubina no conjugada en la sangre

Anemias hemolíticas

Son causas importantes de hiperbilirrubinemia no conjugada, aunque esta última generalmente sólo es leve (< 4 mg/dl; < 68.4 μmol/L) incluso en caso de hemólisis extensa, debido a la gran capacidad del hígado sano para manejar la bilirrubina.

“Ictericia siológica” neonatal

Este estado transitorio es el origen más frecuente de hiperbilirrubinemia no conjugada. Se produce por hemólisis acelerada alrededor del momento del **nacimiento**, y por un sistema hepático inmaduro para la captación, conjugación y secreción de bilirrubina. No sólo hay reducción de la actividad de bilirrubina-UGT, sino que probablemente hay síntesis reducida del sustrato para esa enzima, el ácido UDP-glucurónico. Dado que la cantidad aumentada de bilirrubina es no conjugada, tiene la capacidad de penetrar en la barrera hematoencefálica cuando su concentración en el plasma excede aquella a la cual la albúmina puede unirse estrechamente (20 a 25 mg/dl). Esto puede causar una encefalopatía tóxica hiperbilirrubinémica, o **kernícterus**, que puede suscitar retraso mental. Debido a la inducibilidad reconocida de este sistema metabolizador de bilirrubina, se ha administrado fenobarbital a recién nacidos ictéricos, y es eficaz en este trastorno. Más aún, la exposición a luz azul (fototerapia) promueve la excreción hepática de bilirrubina no conjugada al convertir algo de la bilirrubina en otros derivados, como fragmentos maleimida e isómeros geométricos que se excretan en la bilis.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo I; ictericia no hemolítica congénita

El **síndrome de Crigler-Najjar tipo I** es un raro trastorno autosómico recesivo. Se caracteriza por ictericia congénita grave (la bilirrubina sérica por lo general excede 20 mg/dl) debida a mutaciones del gen que codifica para la actividad de bilirrubina-UGT en tejidos hepáticos. La enfermedad suele ser mortal en el transcurso de los primeros 15 meses de vida. Los niños afectados han sido tratados con fototerapia, lo que produce cierta reducción de las cifras plasmáticas de bilirrubina. El fenobarbital no tiene efecto sobre la formación de glucurónidos de bilirrubina en pacientes con síndrome de Crigler-Najjar tipo I. Un trasplante hepático es una medida curativa.

Cabe hacer notar que el gen que codifica para la bilirrubina-UGT humana forma parte del complejo grande de genes que codifican para UGT situado en el cromosoma 2. Muchos sustratos diferentes están sujetos a glucuronosilación, de modo que se necesitan muchas glucuronosiltransferasas. El complejo contiene aproximadamente 13 primeros exones específicos para sustrato, cada uno con su propio promotor. Cuatro son seudogenes, de manera que están codificadas nueve isoformas diferentes con actividades de glucuronosiltransferasa que difieren. El exón A1 es el involucrado en la conjugación de bilirrubina. En el caso de la bilirrubina, el exón A1 se divide hacia los exones 2 a 5 que contienen DNA, lo que produce bilirrubina-UGT. Otras transferasas se producen por división de otros primeros exones (miembros de A 2 a 13) hacia exones 2 a 5.

Síndrome de Crigler-Najjar tipo II

Este raro trastorno hereditario también se produce por mutaciones del gen que codifica para bilirrubina-UGT, pero se retiene algo de actividad de la enzima, y la evolución de la enfermedad es más benigna que la del tipo I. Las concentraciones séricas de bilirrubina regularmente no exceden 20 mg/dl. Los afectados pueden mostrar respuesta al tratamiento con dosis grandes de fenobarbital.

Síndrome de Gilbert

De nuevo, esta enfermedad relativamente prevaleciente es el resultado de mutaciones del gen que codifica para la bilirrubina-UGT. Predomina en varones. Alrededor de 30% de la actividad de la enzima está preservada, y la enfermedad es por completo inocua.

Hiperbilirrubinemia tóxica

La **hiperbilirrubinemia no conjugada** puede originarse por disfunción hepática inducida por toxina, como la causada por cloroformo, arsfenaminas, tetracloruro de carbono, acetaminofeno, virus de la hepatitis, cirrosis, e intoxicación por el hongo *Amanita*. Estos trastornos adquiridos se deben a daño de células del parénquima hepático, que altera la conjugación.

La obstrucción en el árbol biliar es la causa más frecuente de hiperbilirrubinemia conjugada

Obstrucción del árbol biliar

La **hiperbilirrubinemia conjugada** por lo general se produce por bloqueo de los conductos hepáticos o del colédoco, más a menudo debido a un cálculo biliar o a cáncer de la cabeza del páncreas (fig. 31-16). Debido a la obstrucción, es imposible que haya excreción de diglucurónido de bilirrubina. De esta manera, se regurgita hacia las venas y los linfáticos hepáticos, y aparece bilirrubina conjugada en la sangre y la orina (ictericia colúrica). Asimismo, las heces a menudo son de color pálido y deben examinarse de modo sistemático en cualquier caso de ictericia.

El término **ictericia colestática** se usa para incluir todos los casos de ictericia obstructiva extrahepática. También cubre los casos de ictericia que muestran hiperbilirrubinemia conjugada debido a microobstrucción de conductillos biliares intrahepáticos por hepatocitos tumefactos y dañados (como puede suceder en la hepatitis infecciosa).

Síndrome de Dubin-Johnson

Este trastorno autosómico recesivo benigno consta de hiperbilirrubinemia conjugada durante la niñez o la vida adulta. La hiperbilirrubinemia se produce por mutaciones en el gen que codifica para **MRP-2** (véase antes), la proteína incluida en la secreción de bilirrubina conjugada hacia la bilis. Los hepatocitos centrilobulillares contienen un pigmento de color negro anormal que tal vez se derive de la epinefrina.

Síndrome de Rotor

Es una rara enfermedad benigna caracterizada por hiperbilirrubinemia conjugada crónica y datos histológicos normales en el hígado. No se ha identificado su causa precisa.

Algo de bilirrubina conjugada puede unirse de manera covalente a la albúmina

Cuando las cifras de bilirrubina conjugada permanecen altas en el plasma, una fracción puede **unirse de modo covalente a la albúmina** (bilirrubina δ [delta]). Puesto que está unida de manera covalente a la albúmina, esta fracción tiene una vida media más prolongada en el plasma que la bilirrubina conjugada convencional. Así, permanece alta en el transcurso de la fase de recuperación de la ictericia obstructiva, luego de que el resto de la bilirrubina conjugada ha declinado hasta concentraciones normales; esto explica por qué algunos enfermos siguen pareciendo ictéricos después de que las cifras de bilirrubina conjugada han vuelto a lo normal.

El urobilinógeno y la bilirrubina en la orina son indicadores clínicos

En circunstancias normales sólo hay cantidades traza de urobilinógeno en la orina. En la **obstrucción completa del conducto biliar** no se encuentra urobilinógeno en la orina, dado que la bilirrubina no tiene acceso al intestino, donde puede convertirse en urobilinógeno. En este caso, la presencia de bilirrubina (conjugada) en la orina sin urobilinógeno sugiere ictericia obstructiva, sea intrahepática o poshepática.

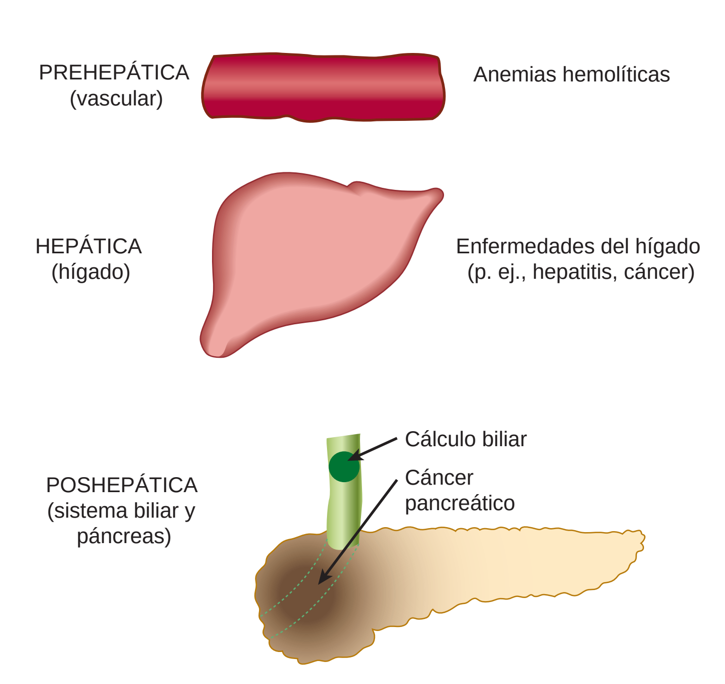


FIGURA 31-16 Diagrama que representa algunas causas importantes de ictericia. **Prehepática** indica eventos en el torrente sanguíneo; la principal causa serían diversas formas de anemia hemolítica (cap. 52). **Hepática** significa eventos en el hígado, como los diversos tipos de hepatitis u otras formas de enfermedad del hígado (p. ej., cáncer). **Poshepática** se refiere a eventos en el árbol biliar; las principales causas de ictericia poshepática son obstrucción del colédoco por un cálculo (cálculo biliar) o por cáncer de la cabeza del páncreas.

CUADRO 31-3 Resultados de laboratorio en sujetos normales y pacientes con tres diferentes causas de ictericia

Estado o enfermedad	Bilirrubina sérica	Urobilinógeno urinario	Bilirrubina en la orina	Urobilinógeno fecal
Normal	Directa: 0.1-0.4 mg/dl	0 a 4 mg/24 h	No hay	40 a 280 mg/24 h
	Indirecta: 0.2-0.7 mg/dl			
Anemia hemolítica	↑Indirecta	Incrementado	No hay	Aumentado
Hepatitis	↑Directa e indirecta	Disminuido si hay microobstrucción	Presente si hay microobstrucción	Disminuido
Ictericia obstructiva[1]	↑Directa	No hay	Presente	Cantidad traza o no hay

[1]Las causas más frecuentes de ictericia obstructiva (poshepática) son cáncer de la cabeza del páncreas, y un cálculo biliar alojado en el colédoco. La presencia de bilirrubina en la orina en ocasiones se denomina coluria; por ende, la hepatitis y la obstrucción del colédoco originan ictericia colúrica, mientras que la ictericia propia de la anemia hemolítica se denomina acolúrica. Los resultados de laboratorio en sujetos con hepatitis son variables, dependiendo de la extensión del daño de las células del parénquima, y de la extensión de la microobstrucción de los conductillos biliares. Las cifras séricas de **alanina aminotransferasa** (ALT) y **aspartato aminotransferasa** (AST) por lo general están notoriamente altas en individuos con hepatitis, mientras que las de **fosfatasa alcalina** están altas en la hepatopatía obstructiva.

En la **ictericia consecutiva a hemólisis**, la producción aumentada de bilirrubina conduce a incremento de la producción de urobilinógeno, que aparece en la orina en grandes cantidades. La bilirrubina por lo general no se encuentra en la orina en la ictericia hemolítica (porque la bilirrubina no conjugada no pasa hacia la orina), de modo que la combinación de urobilinógeno aumentado y ausencia de bilirrubina es sugestiva de ictericia hemolítica. El incremento de la destrucción de sangre por cualquier causa desencadena un aumento del urobilinógeno urinario.

El cuadro 31-3 resume los **resultados de laboratorio** obtenidos en individuos con tres diferentes causas de ictericia: anemia hemolítica (una causa prehepática), hepatitis (una causa hepática) y obstrucción del colédoco (una causa poshepática) (fig. 31-16). Los análisis de laboratorio en la sangre (evaluación de la posibilidad de una anemia hemolítica, y medición del tiempo de protrombina) y en el suero (p. ej., electroforesis de proteínas; actividades de las enzimas ALT, AST y fosfatasa alcalina) también son importantes para ayudar a distinguir entre causas prehepáticas, hepáticas y poshepáticas de ictericia.

RESUMEN

- Las hemoproteínas, como la hemoglobina y los citocromos, contienen hem. El hem es un compuesto de hierro-por rina (Fe^{2+}-protopor rina IX) en el cual cuatro anillos pirrol están unidos por puentes de metino. Los ocho grupos laterales (sustituyentes metilo, vinilo y propionilo) en los cuatro anillos pirrol del hem están dispuestos en una secuencia especí ca.
- El anillo hem se biosintetiza en las mitocondrias y en el citosol por medio de ocho pasos enzimáticos. Comienza con la formación del δ-aminolevulinato (ALA) a partir de la succinil-CoA y la glicina en una reacción catalizada por la ALA sintasa, la enzima reguladora de la vía.
- Las anormalidades determinadas por mecanismos genéticos, de siete de las ocho enzimas involucradas en la biosíntesis del hem producen las por rias hereditarias. Los eritrocitos y el hígado son los principales sitios de expresión metabólica de las por rias. La fotosensibilidad y los problemas neurológicos son molestias frecuentes. La ingestión de ciertos compuestos (como plomo) puede ocasionar por rias adquiridas. Pueden detectarse cantidades aumentadas de por rinas o sus precursores en sangre y orina, lo que facilita el diagnóstico.
- El catabolismo del anillo hem se inicia por la enzima hem oxigenasa, lo que da por resultado un tetrapirrol lineal.
- La biliverdina es un producto temprano del catabolismo, y en el momento de reducción da bilirrubina. La albúmina transporta a esta última desde los tejidos periféricos hacia el hígado, donde es captada por los hepatocitos. El hierro de hem y los aminoácidos de la globina se conservan y reutilizan.
- En el hígado, la bilirrubina se hace hidrosoluble mediante conjugación con dos moléculas de ácido glucurónico, y se secreta hacia la bilis. La acción de las enzimas bacterianas en el intestino produce urobilinógeno y urobilina, que se excretan en las heces y la orina.
- La ictericia se debe a incremento de la concentración de bilirrubina en la sangre. Las causas de ictericia se clasi can como prehepáticas (p. ej., anemias hemolíticas), hepáticas (p. ej., hepatitis) y poshepáticas (p. ej., obstrucción del colédoco). Las mediciones de la bilirrubina plasmática total y no conjugada, del urobilinógeno y la bilirrubina urinarios, y de ciertas enzimas séricas, así como la inspección y el análisis de muestras de heces, ayudan a distinguir entre estas causas.

REFERENCIAS

Anderson KE et al: Disorders of heme biosynthesis: X-linked sideroblastic anemia and the porphyrias. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. Chapter 124. Scriver CR et al (eds). McGraw-Hill, 2001.

Chowdhury JR et al: Hereditary jaundice and disorders of bilirubin metabolism. In: *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. Chapter 125. Scriver CR et al (eds). McGraw-Hill, 2001.

Deacon AC, Whatley SD, Elder GH: Porphyrins and disorders of porphyrin metabolism. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Chapter 32. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). Elsevier Saunders, 2006.

Desnick RJ, Astrin KH: The porphyrias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (eds). Chapter 352. McGraw-Hill, 2008.

Dufour DR: Liver disease. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). Chapter 47. Elsevier Saunders, 2006.

Higgins T, Beutler E, Doumas BT: Hemoglobin, iron and bilirubin. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). Chapter 31. Elsevier Saunders, 2006.

Pratt DS, Kaplan MM: Jaundice. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (eds). Chapter 43. McGraw-Hill, 2008.

Pratt DS, Kaplan MM: Evaluation of liver function. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (eds). Chapter 296. McGraw-Hill, 2008.

Wolkoff AW: The hyperbilirubinemias. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. Fauci AS et al (eds). Chapter 297. McGraw-Hill, 2008.

SECCIÓN IV ESTRUCTURA, FUNCIÓN Y REPLICACIÓN DE MACROMOLÉCULAS INFORMACIONALES

CAPÍTULO 32

Nucleótidos

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de servir como precursores de ácidos nucleicos, los nucleótidos purina y pirimidina participan en funciones metabólicas tan diversas como el metabolismo de energía, la síntesis de proteína, la regulación de la actividad enzimática y la transducción de señal. Cuando se enlazan a vitaminas o derivados de vitaminas, los nucleótidos forman parte de muchas coenzimas. Como los principales donadores y receptores de grupos fosforilo en el metabolismo, los nucleósidos trifosfatos y difosfatos, como el ATP y ADP, son los principales elementos en las transducciones de energía que acompañan a las interconversiones metabólicas y la fosforilación oxidativa. Enlazados a azúcares o lípidos, los nucleósidos constituyen intermediarios biosintéticos clave. Los derivados del azúcar UDP-glucosa y UDP-galactosa participan en interconversiones de azúcar y en la biosíntesis de almidón y glucógeno. De modo similar, los derivados nucleósido-lípido, como el CDP-acilglicerol, son intermediarios en la biosíntesis de lípidos. Las funciones de los nucleótidos en la regulación metabólica son fosforilación (dependiente de ATP) de enzimas metabólicas clave, regulación alostérica de enzimas por ATP, AMP y CTP, y control por el ADP del índice de fosforilación oxidativa. Los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP sirven como los segundos mensajeros en eventos regulados por hormonas, y el GTP y GDP desempeñan funciones clave en la cascada de eventos que caracterizan a las vías de transducción de señal. Las aplicaciones específicamente médicas son el uso de análogos de purina y pirimidina sintéticos que contienen halógenos, tioles, o átomos de nitrógeno adicionales, en la quimioterapia de cáncer y SIDA, y como supresores de la respuesta inmunitaria durante trasplante de órganos.

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LAS PURINAS, LAS PIRIMIDINAS, LOS NUCLEÓSIDOS Y LOS NUCLEÓTIDOS

Las purinas y pirimidinas son compuestos heterocíclicos

Las purinas y pirimidinas son **heterociclos** que contienen nitrógeno, estructuras que contienen, además de carbono, otros (hetero) átomos, como nitrógeno. Note que la molécula de pirimidina de menor tamaño tiene el nombre *más largo,* y que la molécula de purina de mayor tamaño tiene el nombre *más corto,* y que sus anillos de seis átomos están numerados en direcciones opuestas (fig. 32-1). Las purinas o pirimidinas con un grupo —NH_2 son bases débiles (valores de pK_b de 10 a 11). La naturaleza planar de las purinas y las pirimidinas facilita su asociación estrecha, o "apilamiento", que

Purina

Pirimidina

FIGURA 32-1 Purina y pirimidina. Los átomos están numerados de acuerdo con el sistema internacional.

FIGURA 32-2 Tautomerismo de los grupos funcionales oxo y amino de purinas y pirimidinas.

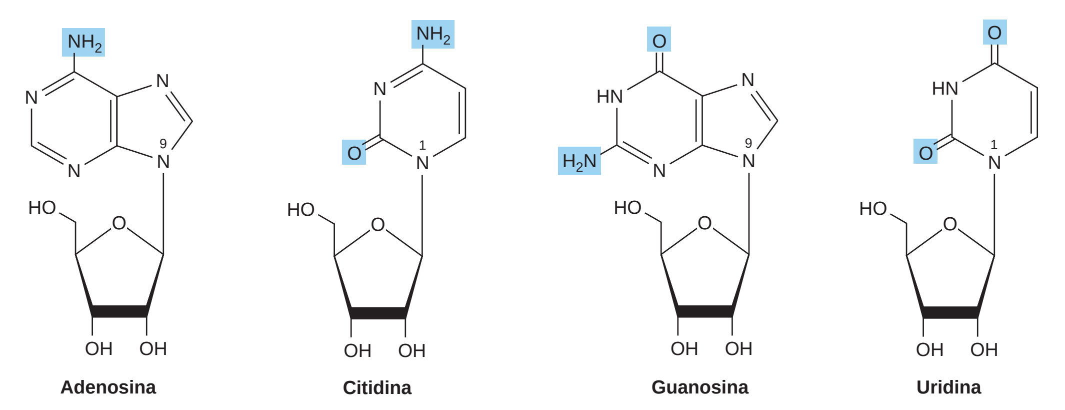


FIGURA 32-3 Ribonucleósidos, dibujados como los conformadores *sin*.

estabiliza el DNA bicatenario (cap. 34). Los grupos oxo y amino de purinas y pirimidinas muestran **tautomerismo** ceto-enol y amina-imina (fig. 32-2), aunque las condiciones fisiológicas favorecen fuertemente las formas amino y oxo.

Los nucleósidos son *N*-glucósidos

Los nucleó**sidos** son derivados de purinas y pirimidinas que tienen un azúcar enlazado a un nitrógeno de anillo de una purina o pirimidina. Los números con una prima (p. ej., 2′ o 3′) distinguen entre los átomos del azúcar y los del heterociclo. El azúcar en los **ribonucleósidos** es la D-ribosa, y en los **desoxirribonucleósidos** es la 2-desoxi-D-ribosa. Ambos azúcares están unidos al heterociclo por medio de un enlace **β-N-glucosídico,** casi siempre al N-1 de una pirimidina o al N-9 de una purina (fig. 32-3).

Los nucleótidos son nucleósidos fosforilados

Los mononucleó**tidos** son nucleó**sidos** con un grupo fosforilo esterificado a un grupo hidroxilo del azúcar. Los nucleótidos 3′ y 5′ son nucleósidos con un grupo fosforilo en el grupo 3′- o 5′-hidroxilo del azúcar, respectivamente. Dado que casi todos los nucleótidos son 5′-, el prefijo "5′-" por lo general se omite cuando se les cita. Así, el UMP y el dAMP representan nucleótidos con un grupo fosforilo en el C-5 de la pentosa. Los grupos fosforilo adicionales, ligados por **enlaces anhídrido de ácido** al grupo fosforilo de un mononucleótido, forman nucleósido **difosfatos** y **trifosfatos** (fig. 32-4).

Los *N*-glucósidos heterocíclicos existen como conformadores *sin* y *anti*

El obstáculo estérico por el heterociclo dicta que no hay libertad de rotación alrededor del enlace β-*N*-glucosídico de nucleósidos o nucleótidos. En consecuencia, ambos existen como **conformadores *sin* o *anti*** no interconvertibles (fig. 32-5). Al contrario de los tautómeros, los conformadores *sin* y *anti* sólo se pueden interconvertir por división y reformación del enlace glucosídico. Los conformadores *sin* como *anti* se encuentran en la naturaleza, pero predominan los conformadores *anti*.

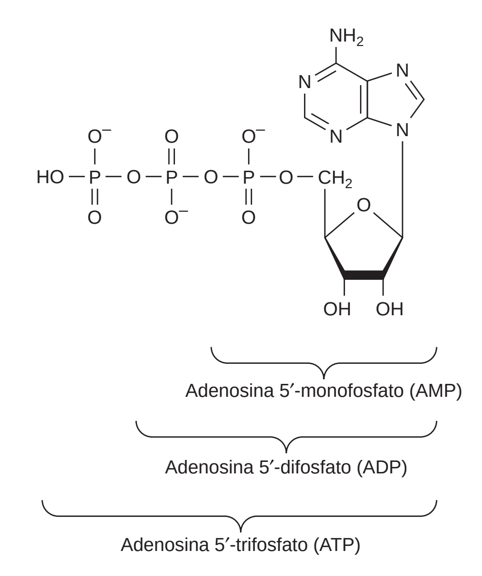


FIGURA 32-4 ATP, su difosfato y su monofosfato.

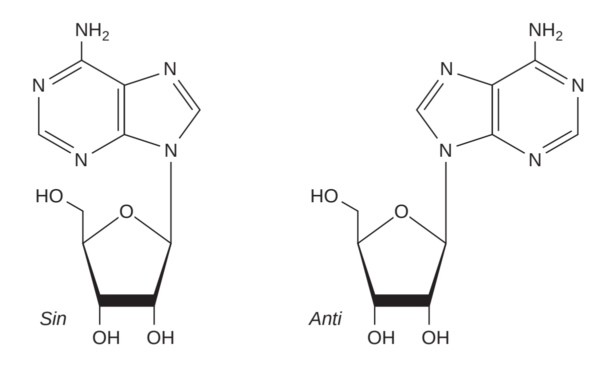


FIGURA 32-5 Los conformadores *sin* y *anti* de la adenosina difieren respecto a la orientación alrededor del enlace *N*-glucosídico.

El cuadro 32-1 lista las principales purinas y pirimidinas, y sus derivados nucleósido y nucleótido. Se usan abreviaturas de una sola letra para identificar a la adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U), sean libres o presentes en nucleósidos o nucleótidos. El prefijo "d" (desoxi) indica que el azúcar es 2′-desoxi-D-ribosa (p. ej., en el dATP) (fig. 32-6).

CUADRO 32-1 **Bases purina, ribonucleósidos y ribonucleótidos**

Purina o pirimidina	X = H	X = ribosa	X = ribosa fosfato
	Adenina	Adenosina	Adenosina monofosfato (AMP)
	Guanina	Guanosina	Guanosina monofosfato (GMP)
	Citosina	Citidina	Citidina monofosfato (CMP)
	Uracilo	Uridina	Uridina monofosfato (UMP)
	Timina	Timidina	Timidina monofosfato (TMP)

La modificación de polinucleótidos puede generar estructuras adicionales

Pequeñas cantidades de purinas y pirimidinas adicionales se encuentran en el DNA y en los RNA. Los ejemplos incluyen 5-metilcitosina del DNA bacteriano y de seres humanos, 5-hidroximetilcitosina de ácidos nucleicos bacterianos y virales, y adenina y guanina mono- y di-N-metiladas de RNA mensajeros de mamífero (fig. 32-7) que funcionan en el reconocimiento de oligonucleótido y en la regulación de la vida media de los RNA. Los nucleótidos libres

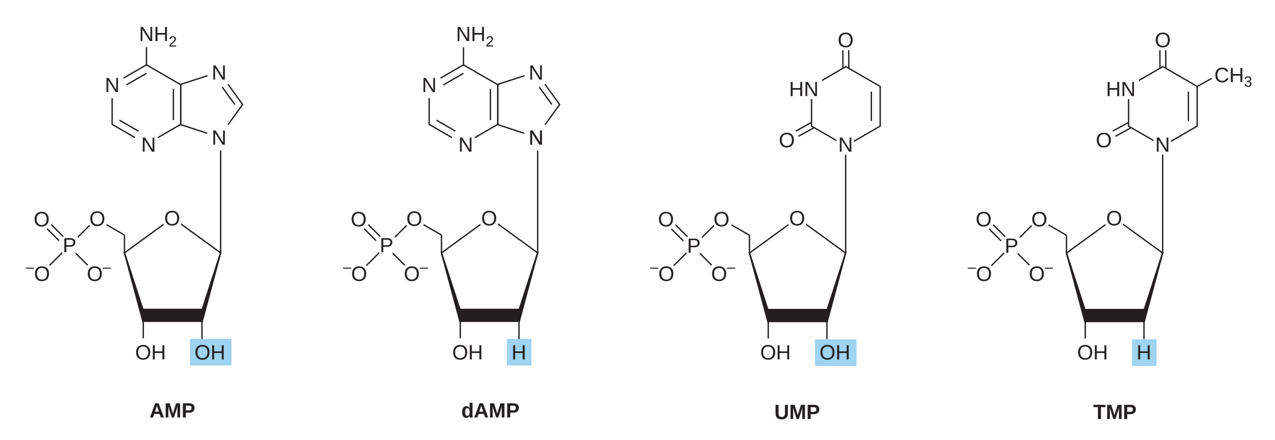


FIGURA 32-6 Estructuras del AMP, dAMP, UMP y TMP.

5-Metilcitosina **5-Hidroximetilcitosina**

Dimetilaminoadenina **7-Metilguanina**

FIGURA 32-7 Cuatro pirimidinas y purinas poco comunes pero naturales.

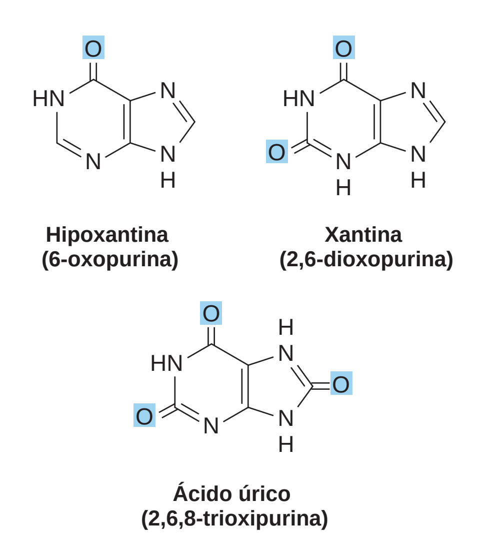


FIGURA 32-8 Estructuras de la hipoxantina, xantina y ácido úrico, dibujadas como los tautómeros oxo.

FIGURA 32-9 Cafeína, una trimetilxantina. Las dimetilxantinas teobromina y teofilina son similares, pero carecen del grupo metilo en N-1 y en N-7, respectivamente.

comprenden hipoxantina, xantina y ácido úrico (fig. 32-8) que son intermediarios en el catabolismo de la adenina y la guanina (cap. 33). Los heterociclos metilados de vegetales incluyen los derivados de xantina: cafeína del café, teofilina del té y teobromina del cacao (fig. 32-9).

Los nucleótidos son ácidos polifuncionales

Los grupos fosforilo de nucleósidos tienen valores de pK_a de alrededor de 1.0; por ende, los nucleótidos portan carga negativa importante a pH fisiológico. En contraste, los valores de pK_a de los grupos fosforilo secundarios son de aproximadamente 6.2, de manera que éstos pueden servir como donadores o aceptores de protones a valores de pH de alrededor de dos o más unidades por arriba o por debajo de la neutralidad.

Los nucleótidos absorben luz ultravioleta

Los dobles enlaces conjugados de derivados de purina y pirimidina absorben luz ultravioleta. El efecto mutagénico de la luz ultravioleta se debe a su absorción por nucleótidos en el DNA, que da por resultado modificaciones químicas (cap. 35). Si bien los espectros son dependientes del pH, a pH de 7.0 todos los nucleótidos comunes absorben luz a una longitud de onda cercana a 260 nm. De este modo, la concentración de nucleótidos y ácidos nucleicos suele expresarse en términos de "absorbancia a 260 nm".

Los nucleótidos desempeñan diversas funciones fisiológicas

Además de sus funciones como precursores de ácidos nucleicos, ATP, GTP, UTP, CTP y sus derivados, cada uno desempeña funciones fisiológicas singulares que se comentan en otros capítulos. Algunos ejemplos seleccionados incluyen la función del ATP como el principal transductor biológico de energía libre, y el segundo mensajero cAMP (fig. 32-10). Las cifras intracelulares medias de ATP, el nucleótido libre más abundante en células de mamífero, son de aproximadamente 1 mmol/L. Puesto que se requiere poco cAMP, la concentración intracelular de cAMP (alrededor de 1 nmol/L) es tres órdenes de magnitud por debajo de la del ATP. Otros ejemplos son la adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato (fig. 32-11), el donador de sulfato para proteoglucanos sulfatados (cap. 48) y para conjugados

FIGURA 32-10 cAMP, AMP 3',5'-cíclico, y cGMP, GMP 3',5'-cíclico.

Adenina — Ribosa — P — O — SO_3^{2-} (con P en la ribosa)

FIGURA 32-11 Adenosina 3'-fosfato-5'-fosfosulfato.

FIGURA 32-12 *S*-Adenosilmetionina.

sulfato de fármacos, y el donador de grupo metilo *S*-adenosilmetionina (fig. 32-12). El GTP sirve como un regulador alostérico y como una fuente de energía para la síntesis de proteína, y el cGMP (fig. 32-10) sirve como un segundo mensajero en respuesta al óxido nítrico (NO) durante la relajación del músculo liso (cap. 49). Los derivados UDP-azúcar participan en epimerizaciones de azúcar y en la biosíntesis de glucógeno, disacáridos glucosilo, y los oligosacáridos de glucoproteínas y proteoglucanos (caps. 47 y 48). El ácido UDP-glucurónico forma los conjugados glucurónido urinarios de la bilirrubina (cap. 31) y de muchos medicamentos, incluso el ácido acetilsalicílico (aspirina). El CTP participa en la biosíntesis de fosfoglicéridos, esfingomielina, y otras esfingosinas sustituidas (cap. 24). Finalmente, muchas coenzimas incorporan nucleótidos, así como estructuras similares a nucleótidos purina y pirimidina (cuadro 32-2).

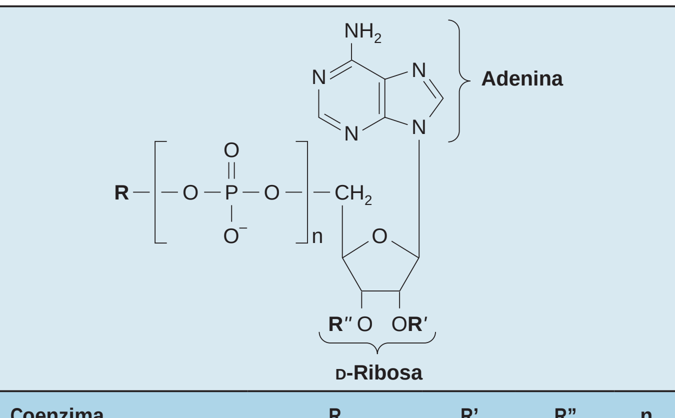
Los nucleósido trifosfatos tienen alto potencial de transferencia de grupo

Los anhídridos ácidos, al contrario de los ésteres fosfato, tienen alto potencial de transferencia de grupo. La $\Delta G^{0'}$ para la hidrólisis de cada uno de los dos grupos fosforilo terminales (β y γ) de nucleósido trifosfatos es de aproximadamente −7 kcal/mol (−30 kJ/mol). El alto potencial de transferencia de grupo de nucleósido trifosfatos purina y pirimidina les permite funcionar como reactivos de transferencia de grupo, con mayor frecuencia del grupo γ-fosforilo. La división de un enlace anhídrido ácido típicamente está unida a un proceso muy endergónico, como la síntesis de enlace covalente; p. ej., polimerización de nucleósido trifosfatos para formar un ácido nucleico.

ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO SINTÉTICOS SE USAN EN QUIMIOTERAPIA

Análogos sintéticos de purinas, pirimidinas, nucleósidos y nucleótidos modificados en el anillo heterocíclico o en la porción azúcar, tienen muchas aplicaciones en medicina clínica. Sus efectos tóxicos reflejan inhibición de enzimas esenciales para la síntesis de ácido nucleico o su incorporación hacia ácidos nucleicos con alteración resultante de la formación de pares de bases. Los oncólogos emplean

CUADRO 32-2 Muchas coenzimas y compuestos relacionados son derivados del adenosina monofosfato



Coenzima	R	R'	R"	n
Metionina activa	Metionina[a]	H	H	0
Aminoácido adenilatos	Aminoácido	H	H	1
Sulfato activo	SO_3^{2-}	H	PO_3^{2-}	1
AMP 3',5'-cíclico		H	PO_3^{2-}	1
NAD[b]	Nicotinamida	H	H	2
NADP[b]	Nicotinamida	PO_3^{2-}	H	2
FAD	Riboflavina	H	H	2
Coenzima A	Pantotenato	H	PO_3^{2-}	2

[a]Remplaza al grupo fosforilo.
[b]R es un derivado de la vitamina B.

5-fluorouracilo o 5-yodouracilo, 3-desoxiuridina, 6-tioguanina y 6-mercaptopurina, 5- o 6-azauridina, 5- o 6-azacitidina y 8-azaguanina (fig. 32-13), que se incorporan hacia el DNA antes de la división celular. El análogo de purina alopurinol, usado en el tratamiento de hiperuricemia y gota, inhibe la biosíntesis de purina y la actividad de la xantina oxidasa. La citarabina se usa en la quimioterapia de cáncer, y la azatioprina, que se cataboliza hacia 6-mercaptopurina, se emplea durante trasplante de órgano para suprimir el rechazo inmunitario (fig. 32-14).

Los análogos de nucleósido trifosfato no hidrolizables sirven como instrumentos de investigación

Los análogos sintéticos, no hidrolizables, de nucleósido trifosfatos (fig. 32-15) permiten a los investigadores distinguir entre los efectos de nucleótidos debidos a la transferencia de fosforilo y los efectos mediados por la ocupación de sitios de unión a nucleótido alostéricos sobre enzimas reguladas.

EL DNA Y RNA SON POLINUCLEÓTIDOS

El grupo 5′-fosforilo de un mononucleótido puede esterificar un segundo grupo hidroxilo, lo que forma un **fosfodiéster**. Con mayor frecuencia, este segundo grupo hidroxilo es el 3′-OH de la pentosa

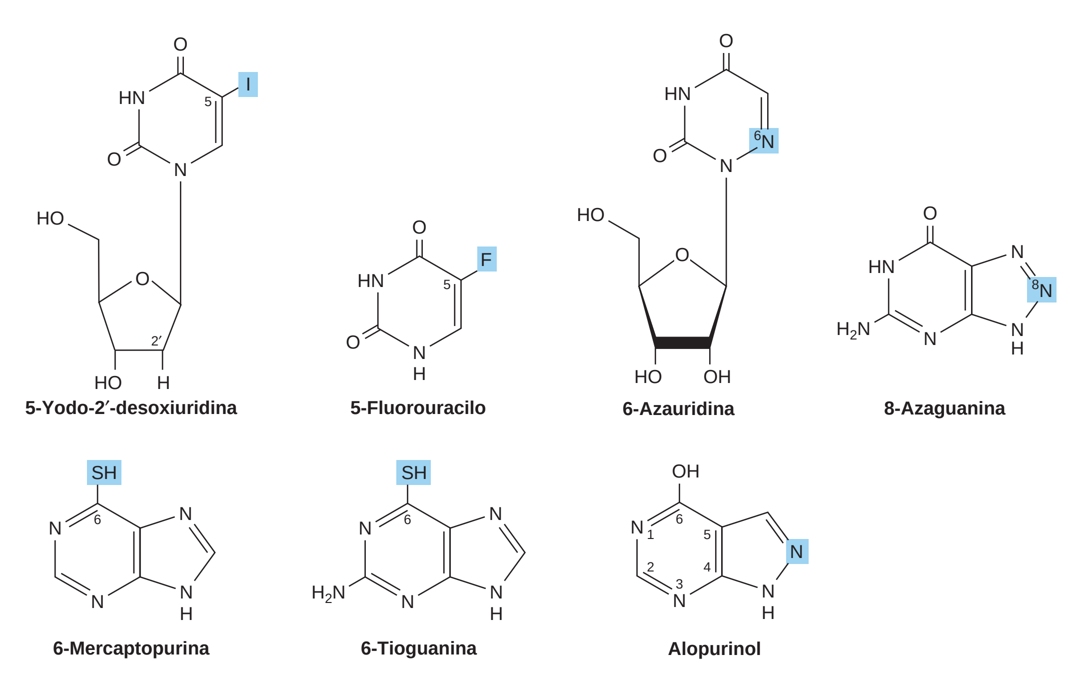


FIGURA 32-13 Análogos de pirimidina y purina sintéticos seleccionados.

Citarabina

Azatioprina

FIGURA 32-14 Arabinosilcitocina (citarabina) y azatioprina.

Pu/Py — R — O — P — O — P — O — P — O⁻

Nucleósido trifosfato madre

Pu/Py — R — O — P — O — P — CH_2 — P — O⁻

Derivado β-γ-metileno

Pu/Py — R — O — P — O — P — NH — P — O⁻

Derivado β-γ-imino

FIGURA 32-15 Derivados sintéticos de nucleósido trifosfatos incapaces de pasar por liberación hidrolítica del grupo fosforilo terminal. (Pu/Py, una base purina o pirimidina; R, ribosa o desoxirribosa.) Se muestran el nucleósido trifosfato madre (hidrolizable) **(arriba)** y los derivados β-metileno **(centro)** y γ-imino **(abajo)** no hidrolizables.

de un segundo nucleótido. Esto forma un **dinucleótido** en el cual las porciones pentosa están enlazadas mediante un enlace 3′,5′-fosfodiéster para formar el "esqueleto" del RNA y el DNA. La formación de un dinucleótido puede representarse como la eliminación de agua entre dos mononucleótidos. Sin embargo, la formación biológica de dinucleótidos no ocurre de esta manera porque la reacción inversa, la hidrólisis del enlace fosfodiéster, se favorece fuertemente desde el punto de vista termodinámico. Empero, a pesar de una ΔG en extremo favorable, en ausencia de catálisis por **fosfodiesterasas**, la hidrólisis de los enlaces fosfodiéster del DNA únicamente sucede al cabo de periodos prolongados. Por consiguiente, el DNA persiste durante lapsos considerables, y se ha detectado incluso en fósiles. Los RNA son mucho menos estables que el DNA porque el grupo 2′-hidroxilo del RNA (que no se encuentra en el DNA) funciona como un nucleófilo en el transcurso de la hidrólisis del enlace 3′,5′-fosfodiéster.

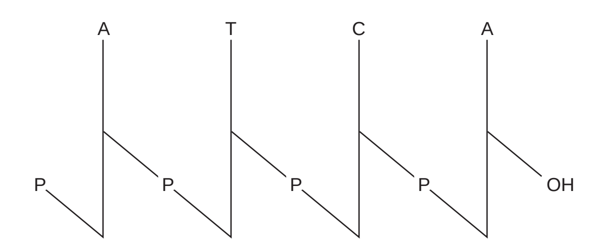
La modificación postraduccional de **polinucleótidos** preformados puede generar estructuras adicionales como **seudouridina**,

un nucleósido en el cual una D-ribosa está enlazada a C-5 del uracilo por medio de un enlace entre un carbono y otro, en lugar de mediante el enlace β-N-glucosídico habitual. El nucleótido ácido seudouridílico (ψ) surge por reordenamiento de un UMP de un tRNA preformado. De modo similar, la metilación por *S*-adenosilmetionina de un UMP de tRNA preformado forma TMP (timidina monofosfato), que contiene ribosa más que desoxirribosa.

Los polinucleótidos son macromoléculas direccionales

Los enlaces fosfodiéster unen los carbonos 3′ y 5′ de monómeros adyacentes. De esta manera, cada extremo de un polímero de nucleótido es distinto; por tanto, se hace referencia al "extremo 5′" o el "extremo 3′" de un polinucleótido; el extremo 5′ es aquel con un 5′-hidroxilo libre o fosforilado.

La secuencia de bases o **estructura primaria** de un polinucleótido puede representarse como se muestra a continuación. El enlace de fosfodiéster se representa por P o p, las bases por medio de una letra única, y las pentosas mediante una línea vertical.



Cuando todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′, es posible una notación más compacta:

pGpGpApTpCpA

Esta representación indica que el 5′-hidroxilo —no así el 3′-hidroxilo— está fosforilado. La representación más compacta sólo muestra la secuencia de bases con el extremo 5′ a la izquierda y el extremo 3′ a la derecha. Se supone que los grupos fosforilo están presentes, pero no se muestran.

RESUMEN

- En condiciones siológicas, predominan los tautómeros amino y oxo de las purinas, pirimidinas y sus derivados.
- Los ácidos nucleicos contienen, además de A, G, C, T y U, trazas de 5-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, seudouridina (ψ), o heterociclos N-metilados.
- Casi todos los nucleósidos contienen D-ribosa o 2-desoxi-D-ribosa enlazada a N-1 de una pirimidina o a N-9 de una purina por medio de un enlace β-glucosídico cuyos conformadores *sin* predominan.
- Un número con una prima ubica la posición del fosfato en los azúcares de mononucleótidos (p. ej., 3′-GMP, 5′-dCMP). Grupos fosforilo adicionales enlazados al primero mediante enlaces anhídrido de ácido forman nucleósido difosfatos y trifosfatos.
- Los nucleósido trifosfatos tienen alto potencial de transferencia de grupo, y participan en síntesis de enlaces covalentes. Los fosfodiésteres cíclicos cAMP y cGMP funcionan como segundos mensajeros intracelulares.
- Los mononucleótidos unidos por enlaces 3′ → 5′-fosfodiéster forman polinucleótidos, macromoléculas direccionales con extremos 3′ y 5′ distintos. Para pTpGpTp o TGCATCA, el extremo 5′ está a la izquierda, y todos los enlaces fosfodiéster son 3′ → 5′.
- Los análogos sintéticos de bases purina y pirimidina y sus derivados sirven como fármacos anticáncer, sea al inhibir una enzima de la biosíntesis de nucleótido o al incorporarse en el DNA o el RNA.

REFERENCIAS

Adams RLP, Knowler JT, Leader DP: *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, 11th ed. Chapman & Hall, 1992.

Blackburn GM, Gait MJ: *Nucleic Acids in Chemistry & Biology.* IRL Press, 1990.

Pacher P, Nivorozhkin A, Szabo C: Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. Pharmacol Rev 2006;58:87.

CAPÍTULO

33

Metabolismo de nucleótidos purina y pirimidina

Victor W. Rodwell, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Aun cuando los seres humanos consumen una dieta con alto contenido de nucleoproteínas, las purinas y pirimidinas de la dieta no se incorporan de modo directo hacia los ácidos nucleicos de tejidos. Los seres humanos sintetizan los ácidos nucleicos, ATP, NAD^+, coenzima A, etc., a partir de intermediarios anfibólicos. Sin embargo, los análogos de purina o pirimidina *inyectados,* entre ellos fármacos anticáncer potenciales, pueden incorporarse hacia el DNA. La biosíntesis de purina y pirimidina oxirribonucleótidos y desoxiribonucleótidos (NTP y dNTP) es un evento regulado con exactitud, coordinado por medio de mecanismos de retroacción que aseguran su producción en cantidades apropiadas, y en momentos que se ajustan a una demanda fisiológica variable (p. ej., división celular). Las enfermedades de seres humanos que incluyen anormalidades del metabolismo de la purina son gota, síndrome de Lesch-Nyhan, deficiencia de adenosina desaminasa, y deficiencia de nucleósido purina fosforilasa. Las enfermedades de la biosíntesis de la pirimidina son más raras, pero incluyen acidurias oróticas. Al contrario de los uratos, los productos del catabolismo de pirimidina (dióxido de carbono, amoniaco, β-alanina y γ-aminoisobutirato) son muy solubles. Un trastorno genético del catabolismo de la pirimidina es la aciduria β-hidroxibutírica, debida a deficiencia total o parcial de la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa. Este trastorno del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada, también es un trastorno de la biosíntesis de β-aminoácidos, dado que la formación de β-alanina y β-aminoisobutirato está alterada. Una forma no genética puede desencadenarse por la administración del medicamento anticáncer 5-fluorouracilo a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

LAS PURINAS Y PIRIMIDINAS SON NO ESENCIALES EN LO QUE SE REFIERE A LA DIETA

Los tejidos humanos son capaces de sintetizar purinas y pirimidinas a partir de intermediarios anfibólicos. Los ácidos nucleicos y nucleótidos ingeridos, que en consecuencia son no esenciales en la dieta, se degradan en el tubo digestivo hacia mononucleótidos, que se pueden absorber o convertir en bases purina y pirimidina. A continuación, las bases purina se oxidan hacia ácido úrico, que se puede absorber o excretar en la orina. Si bien poca o ninguna purina o pirimidina de la dieta se incorpora hacia ácidos nucleicos de tejidos, los compuestos inyectados sí lo hacen. De este modo, la incorporación de $[^3H]$timidina inyectada hacia DNA recién sintetizado, se usa para medir el índice de síntesis de DNA.

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PURINA

Con la excepción de protozoarios parásitos, todas las formas de vida sintetizan nucleótidos purina y pirimidina. La síntesis a partir de intermediarios anfibólicos procede a índices controlados apropiados para todas las funciones celulares. Con el fin de lograr homeostasis, mecanismos intracelulares detectan y regulan el tamaño del fondo común de nucleótido trifosfatos (NTP), que aumenta durante el crecimiento, o la regeneración de tejido, cuando las células se están dividiendo con rapidez. Los nucleótidos purina y pirimidina se sintetizan *in vivo* a índices congruentes con la necesidad fisiológica. En las investigaciones tempranas de biosíntesis de nucleótido se emplearon primero aves, y más tarde *Escherichia coli*. Precursores isotópicos suministrados como alimento a palomas establecieron la fuente de cada átomo de una purina (fig. 33-1) e iniciaron el estudio de los intermediarios de la biosíntesis de purina. Tejidos de aves sirvieron como una fuente de genes clonados que codifican para enzimas de la biosíntesis de purina y las proteínas reguladoras que controlan el índice de biosíntesis de purina.

Los tres procesos que contribuyen a la biosíntesis de nucleótido purina son, en orden de importancia decreciente:

1. Síntesis a partir de intermediarios anfibólicos (síntesis *de novo*).
2. Fosforribosilación de purinas.
3. Fosforilación de nucleósidos purina.

LA INOSINA MONOFOSFATO (IMP) SE SINTETIZA A PARTIR DE INTERMEDIARIOS ANFIBÓLICOS

La figura 33-2 ilustra los intermediarios y las 11 reacciones catalizadas por enzima que convierten a la α-d-ribosa 5-fosfato en inosina monofosfato (IMP). Además de ser el primer intermediario formado en la vía *de novo* para la biosíntesis de purina, el 5-fosforribosil 5-pirofosfato (estructura II, figura 33-2) es un intermediario en la vía de recuperación de purina, y en la biosíntesis de nucleótidos pirimidina, NAD^+ y $NADP^+$. A continuación, ramas separadas con-

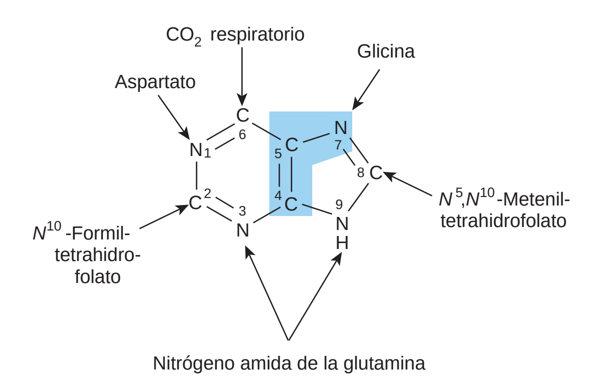


FIGURA 33-1 Fuentes de los átomos de nitrógeno y carbono del anillo de purina. Los átomos 4, 5 y 7 **(resaltados en azul)** se derivan de la glicina.

ducen a AMP y GMP (fig. 33-3). La transferencia subsiguiente de fosforilo desde ATP convierte el AMP y el GMP en ADP y GDP. La conversión de GDP en GTP incluye una segunda transferencia de fosforilo desde el ATP, mientras que la conversión de ADP en ATP se logra principalmente mediante fosforilación oxidativa (cap. 13).

Catalíticos multifuncionales participan en la biosíntesis de nucleótido purina

En procariotas, un polipéptido diferente cataliza cada reacción de la figura 33-2. En contraste, en eucariotas las enzimas son polipéptidos con múltiples actividades catalíticas, cuyos sitios catalíticos adyacentes facilitan la canalización de intermediarios entre sitios. Tres enzimas multifuncionales catalizan las reacciones , y ; las reacciones y , y las reacciones y , de la figura 33-2.

Fármacos antifolato o análogos de glutamina bloquean la biosíntesis de nucleótido purina

Derivados del tetrahidrofolato contribuyen con los carbonos añadidos en las reacciones y de la figura 33-2. Los estados de deficiencia de purina, aunque son raros en seres humanos, por lo general reflejan una deficiencia de ácido fólico. En la quimioterapia de cáncer se han usado compuestos que inhiben la formación de tetrahidrofolatos y que, por ende, bloquean la síntesis de purina. Los compuestos inhibidores y las reacciones que inhiben comprenden **azaserina** (reacción , fig. 33-2), **diazanorleucina** (reacción , fig. 33-2), **6-mercaptopurina** (reacciones y , fig. 33-3) y **ácido micofenólico** (reacción , fig. 33-3).

LAS "REACCIONES DE RECUPERACIÓN" CONVIERTEN PURINAS Y SUS NUCLEÓSIDOS EN MONONUCLEÓTIDOS

La conversión de purinas, sus ribonucleó**sidos,** y sus desoxirribonucleó**sidos** en mononucleó**tidos** incluye "reacciones de recuperación" que requieren mucho menos energía que la síntesis *de novo.* El mecanismo más importante comprende fosforribosilación por PRPP (estructura II, fig. 33-2) de una purina (Pu) libre para formar una purina 5′-mononucleótido (Pu-RP).

$$\text{Pu + PR-PP} \rightarrow \text{Pu-RP + PP}_i$$

La transferencia de fosforilo desde ATP, catalizada por la adenosina e hipoxantina fosforribosil transferasas, convierte a la adenina, hipoxantina y guanina en sus mononucleótidos (fig. 33-4).

Un segundo mecanismo de recuperación incluye la transferencia de fosforilo desde ATP hacia una purina ribonucleó**sido** (Pu-R):

$$\text{Pu-R + ATP} \rightarrow \text{PuR-P + ADP}$$

La fosforilación de los nucleótidos purina, catalizada por la adenosina cinasa, convierte la adenosina y la desoxiadenosina en AMP y dAMP. De manera similar, la desoxicitidina cinasa fosforila a la desoxicitidina y a la 2′-desoxiguanosina, lo que forma dCMP y dGMP.

El hígado, el principal sitio de biosíntesis de nucleótido purina, proporciona purinas y nucleósidos purina para recuperación y para utilización por tejidos incapaces de su biosíntesis. El tejido del cerebro de seres humanos tiene cifras bajas de PRPP glutamil amidotransferasa (reacción , figura 33-2) y, por consiguiente, depende en parte de purinas exógenas. Los eritrocitos y los leucocitos polimorfonucleares no pueden sintetizar 5-fosforribosilamina (estructura III, fig. 33-2) y, por tanto, utilizan purinas exógenas para formar nucleótidos.

LA BIOSÍNTESIS HEPÁTICA DE PURINA ESTÁ REGULADA DE MODO ESTRICTO

La retroacción por AMP y GMP regula a la PRPP glutamil amidotransferasa

Dado que la biosíntesis de IMP consume glicina, glutamina, derivados de tetrahidrofolato, aspartato y ATP, es ventajoso regular la biosíntesis de purina. El principal determinante del índice de la biosíntesis *de novo* de nucleótido purina es la concentración de PRPP, que está en función de sus índices de síntesis, utilización y degradación. El índice de síntesis de PRPP depende de la disponibilidad de ribosa 5-fosfato, y de la actividad de la PRPP sintasa, una enzima sensible a inhibición por retroacción por AMP, ADP, GMP y GDP (fig. 33-5).

La retroacción por AMP y GMP regula su formación a partir de IMP

Dos mecanismos regulan la conversión de IMP en ATP y GTP (fig. 33-6). El AMP y GMP inhiben por retroacción a la adenilosuccinato sintasa y a la IMP deshidrogenasa (reacciones y , fig. 33-3), respectivamente. Además, la conversión de IMP en adenilosuccinato en ruta hacia AMP necesita GTP, y la conversión de xantinilato (XMP) en GMP requiere ATP. Así, esta regulación cruzada entre las vías del metabolismo del IMP, sirve para disminuir la síntesis de una nucleótido purina cuando hay una deficiencia del otro nucleótido. El AMP y GMP también inhiben a la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa, que convierte a la hipoxantina y la guanina en IMP

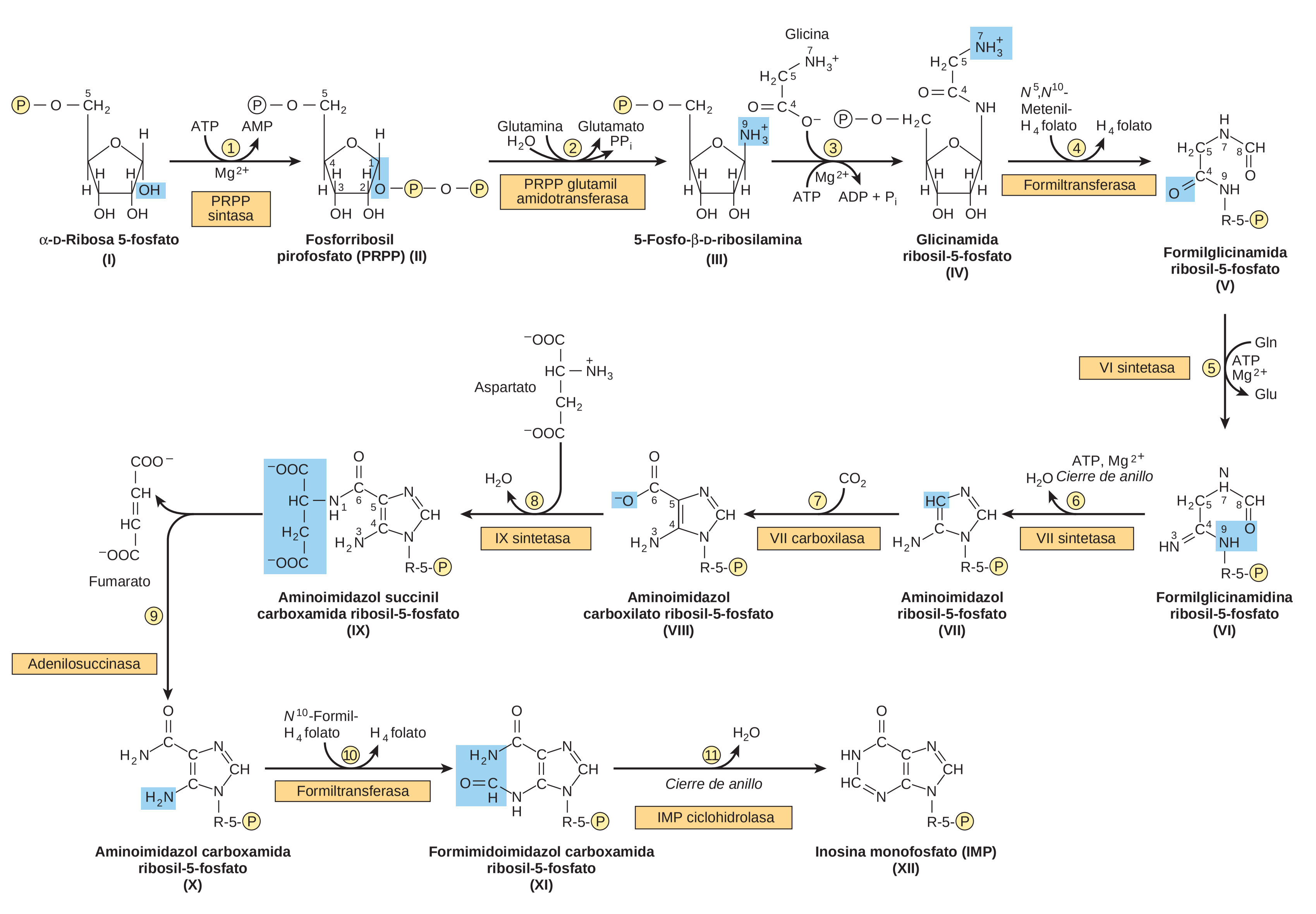


FIGURA 33-2 Biosíntesis de purina a partir de la ribosa 5-fosfato y ATP. Considere las explicaciones en el texto. (P, PO_3^{2-} o PO_2^-.)

FIGURA 33-3 Conversión de IMP en AMP y GMP.

y GMP (fig. 33-4), y el GMP inhibe por retroacción a la PRPP glutamil amidotransferasa (reacción , fig. 33-2).

LA REDUCCIÓN DE RIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS FORMA DESOXIRRIBONUCLEÓSIDO DIFOSFATOS

La reducción del 2′-hidroxilo de purina y pirimidina ribonucleótidos, catalizada por el **complejo de ribonucleótido reductasa** (fig. 33-7), forma desoxirribonucleósido difosfatos (dNDP). El complejo enzimático sólo es funcional cuando las células están sintetizando de modo activo DNA. La reducción necesita tiorredoxina, tiorredoxina reductasa y NADPH. El reductor inmediato, tiorredoxina reducida, se produce por la NADPH: tiorredoxina reductasa (fig. 33-7). La reducción de ribonucleósido difosfatos (NDP) hacia dNDP está sujeta a controles reguladores complejos que logran producción equilibrada de desoxirribonucleótidos para la síntesis de DNA (fig. 33-8).

BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDOS PIRIMIDINA

La figura 33-9 ilustra los intermediarios y las enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina. El catalítico para la reacción inicial es la carbamoil fosfato sintasa II *citosólica*, una enzima diferente de la carbamoil fosfato sintasa I *mitocondrial* de la síntesis de la urea (fig. 28-12). De esta manera, la compartamentalización proporciona dos fondos comunes independientes de carbamoil fosfato. El PRPP, un participante temprano de la síntesis de nucleótido purina (fig. 33-2), es un participante mucho más tardío en la biosíntesis de pirimidina.

Proteínas multifuncionales catalizan las reacciones tempranas de la biosíntesis de pirimidina

Cinco de las primeras seis actividades enzimáticas de la biosíntesis de pirimidina residen en polipéptidos multifuncionales. Uno de esos polipéptidos cataliza las tres primeras reacciones de la figura 33-9, y asegura canalización eficiente de carbamoil fosfato hacia la biosíntesis de pirimidina. Una segunda enzima bifuncional cataliza las reacciones y de la figura 33-9.

LOS DESOXIRRIBONUCLEÓSIDOS DE URACILO Y CITOSINA SE RECUPERAN

Mientras que las células de mamífero reutilizan pocas pirimidinas libres, las "reacciones de recuperación" convierten los pirimidina ribonucleósidos uridina y citidina, y los pirimidina desoxirribonucleósidos timidina y desoxicitidina hacia sus nucleótidos respectivos. Las fosforribosiltransferasas (cinasas) dependientes de ATP catalizan la fosforilación de los difosfatos de la 2′-desoxicitidina, 2′-desoxiguanosina y 2′-desoxiadenosina hacia sus nucleósido

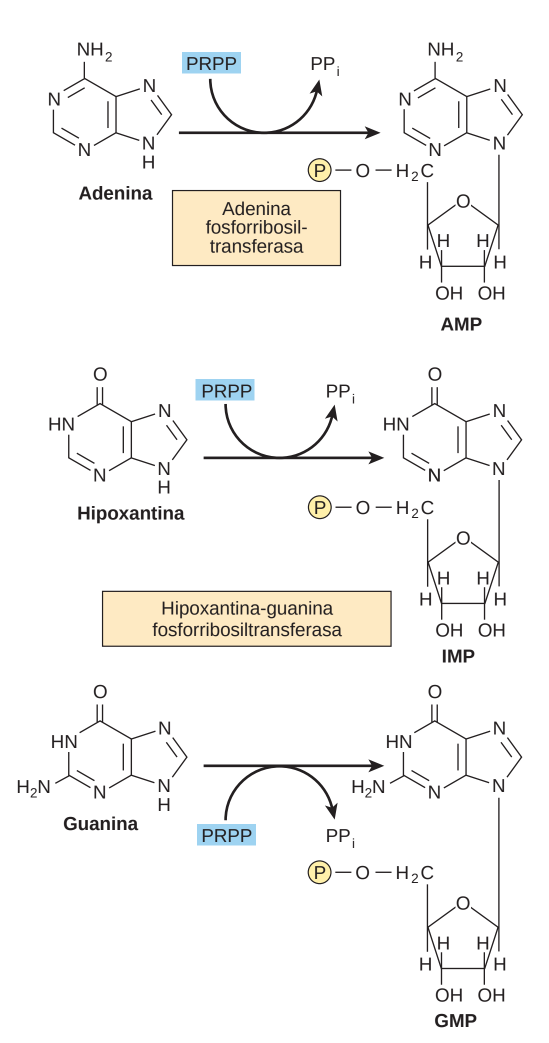


FIGURA 33-4 Fosforribosilación de adenina, hipoxantina y guanina para formar AMP, IMP y GMP, respectivamente.

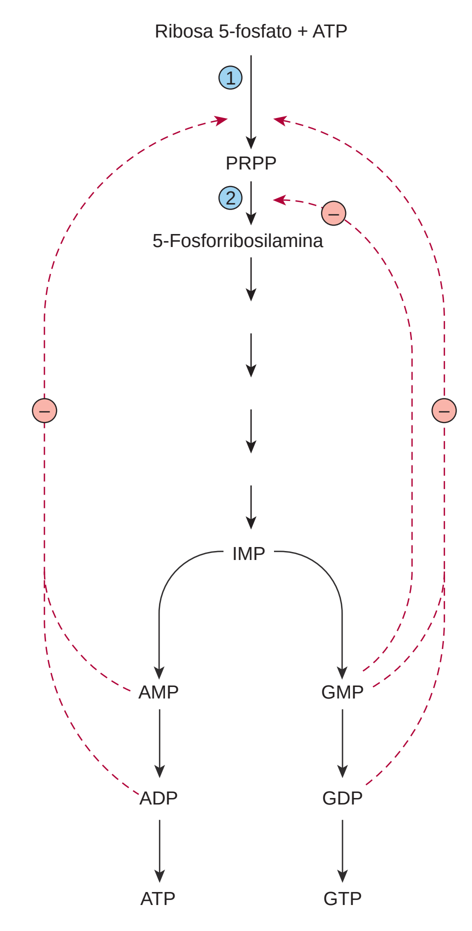


FIGURA 33-5 Control del índice de la biosíntesis *de novo* de nucleótido purina. Las reacciones y son catalizadas por la PRPP sintasa y por la PRPP glutamil amidotransferasa, respectivamente. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas de color rojo discontinuas representan inhibición por retroacción por intermediarios de la vía.

trifosfatos correspondientes. Más aún, la orotato fosforribosiltransferasa (reacción , fig. 33-9), una enzima de la síntesis de nucleótido pirimidina, recupera ácido orótico al convertirlo en orotidina monofosfato (OMP).

El metotrexato bloquea la reducción de dihidrofolato

La reacción de la figura 33-9 es la única reacción de la biosíntesis de nucleótido pirimidina que requiere un derivado tetrahidrofolato. El grupo metileno del N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato se reduce hacia el grupo metilo que se transfiere, y el tetrahidrofolato se oxida hacia dihidrofolato. Para que ocurra síntesis adicional de pirimidina, es necesario que el dihidrofolato se reduzca de regreso hacia tetrahidrofolato, una reacción catalizada por la dihidrofolato reductasa. Así, las células en división, que deben generar TMP y dihidrofolato, son en especial sensibles a inhibidores de la dihidrofolato reductasa, como el medicamento anticáncer **metotrexato**.

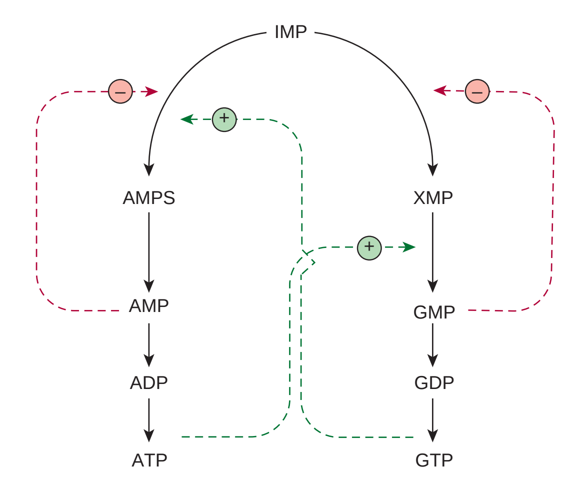


FIGURA 33-6 Regulación de la interconversión de IMP en nucleótidos adenosina y guanosina. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas de color verde discontinuas representan asas de retroacción positiva. Las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa.

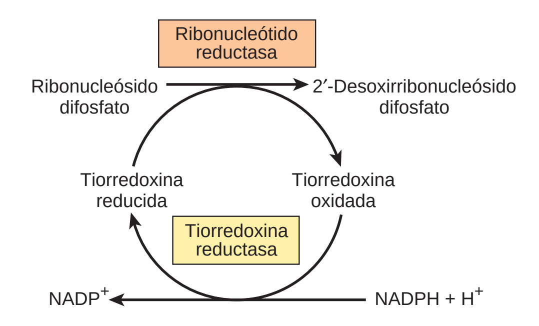


FIGURA 33-7 Reducción de ribonucleósido difosfatos hacia 2′-desoxirribonucleósido difosfatos.

Ciertos análogos de pirimidina son sustratos para enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina

La orotato fosforribosiltransferasa (reacción , fig. 33-9) convierte el fármaco **alopurinol** (fig. 32-13) en un nucleótido en el cual el ribosil fosfato está fijo al N-1 del anillo de pirimidina. La orotato fosforribosiltransferasa también fosforribosila al medicamento anticáncer **5-fluorouracilo** (fig. 32-13).

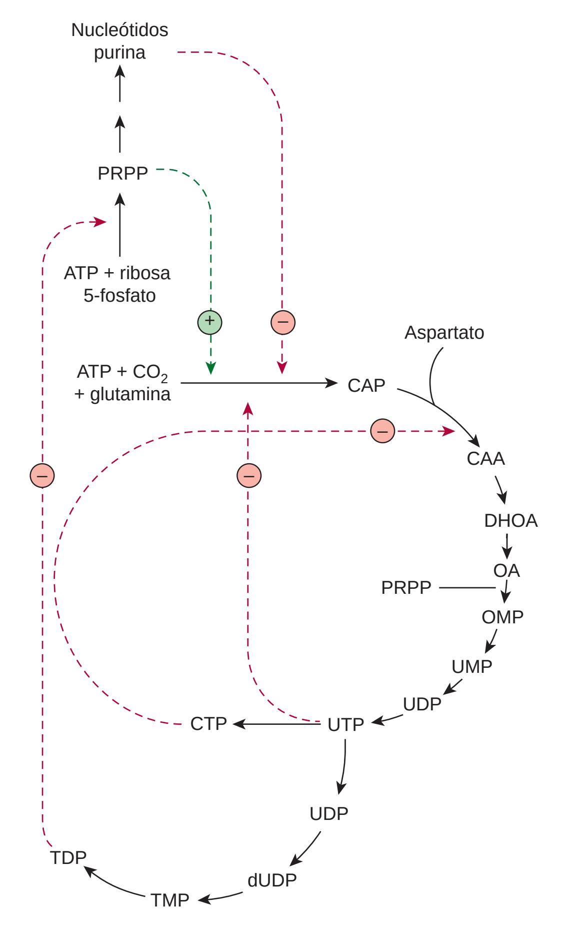


FIGURA 33-8 Regulación de la reducción de purina y pirimidina ribonucleótidos hacia sus 2′-desoxirribonucleótidos respectivos. La línea de color verde discontinua representa un asa de retroacción positiva. Las líneas de color rojo discontinuas representan asas de retroacción negativa.

REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE NUCLEÓTIDO PIRIMIDINA

La expresión de gen y la actividad enzimática están reguladas

Las actividades de la primera y segunda enzimas de la biosíntesis de nucleótido pirimidina están controladas por medio de regulación alostérica. La carbamoil fosfato sintasa II (reacción , fig. 33-9) es inhibida por UTP y nucleótidos purina, pero activada por el PRPP. La aspartato transcarbamoilasa (reacción , fig. 33-9) es inhibida por CTP, pero activada por ATP (fig. 33-10). Además, las primeras tres y las últimas dos enzimas de la vía están reguladas por represión y desrepresión coordinadas.

Las biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina están reguladas de modo coordinado

Las biosíntesis de purina y pirimidina corren parejas una con otra mol por mol, lo que sugiere control coordinado de su biosíntesis. Varios sitios de regulación cruzada caracterizan la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina. La PRPP sintasa (reacción , fig. 33-2), que forma un precursor esencial para ambos procesos, es inhibida por retroacción por los nucleótidos purina y pirimidina.

LOS SERES HUMANOS CATABOLIZAN LAS PURINAS HACIA ÁCIDO ÚRICO

Los seres humanos convierten la adenosina y guanosina en ácido úrico (fig. 33-11). La adenosina desaminasa convierte primero la adenosina en inosina. En mamíferos que no son los primates superiores, la uricasa convierte el ácido úrico en el producto hidrosoluble alantoína. Empero, dado que los seres humanos carecen de uricasa, en ellos el producto terminal del catabolismo de la purina es el ácido úrico.

LA GOTA ES UN TRASTORNO METABÓLICO DEL CATABOLISMO DE LA PURINA

Diversos defectos genéticos de la PRPP sintetasa (reacción , fig. 33-2) se presentan en clínica como gota. Cada defecto —p. ej., una $V_{máx}$ alta, afinidad incrementada por la ribosa 5-fosfato, o resistencia a inhibición por retroacción— da por resultado producción y excreción excesivas de catabolitos de purina. Cuando las cifras séricas de urato exceden el límite de solubilidad, el urato de sodio se cristaliza en los tejidos blandos y las articulaciones, y origina una reacción inflamatoria, la **artritis gotosa**. Con todo, la mayor parte de los casos de gota reflejan anormalidades de la manipulación renal de ácido úrico.

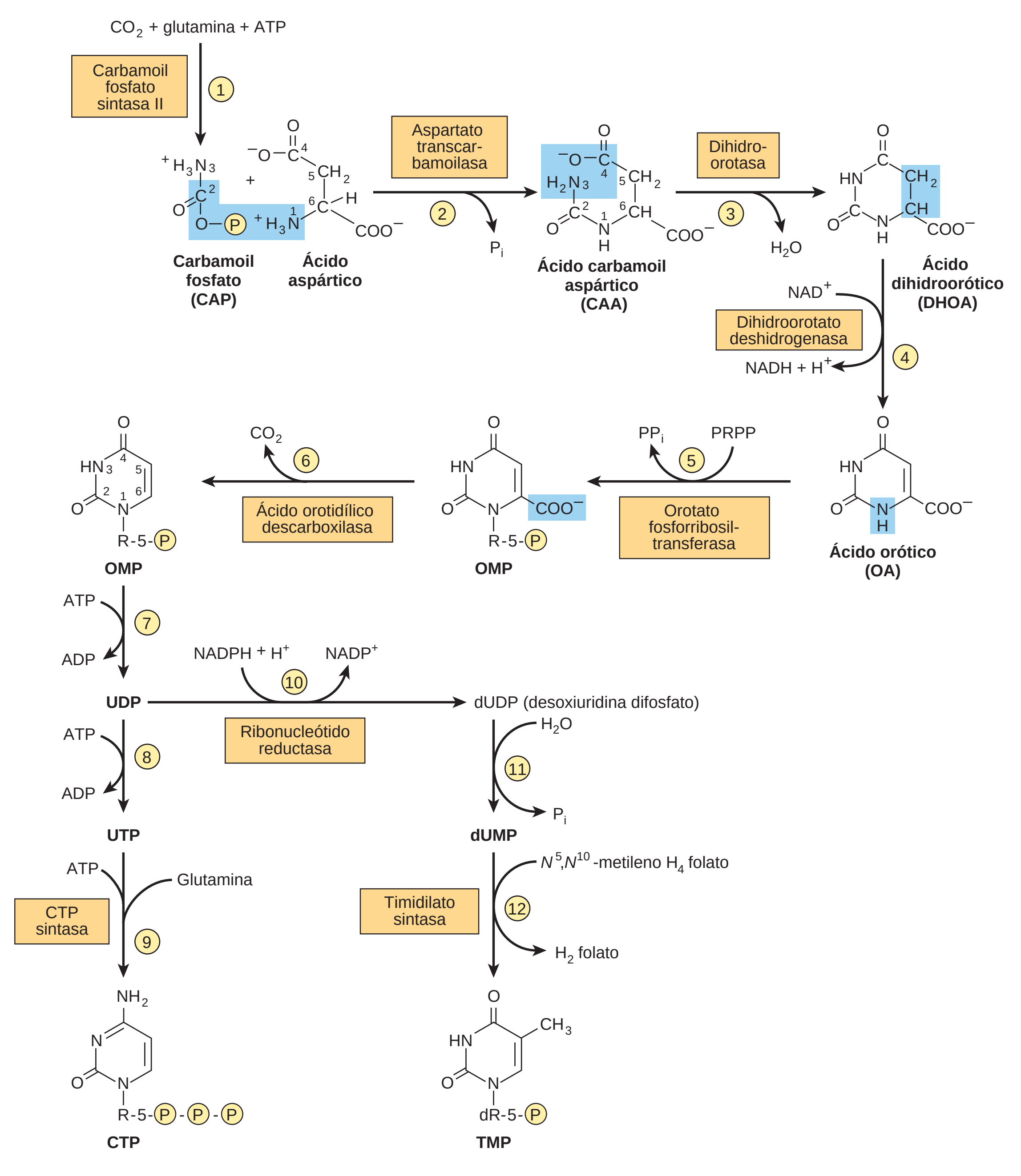


FIGURA 33-9 La vía biosintética para nucleótidos pirimidina.

OTROS TRASTORNOS DEL CATABOLISMO DE PURINA

Aun cuando los estados de deficiencia de purina son raros en seres humanos hay muchos trastornos genéticos del catabolismo de purina. Las **hiperuricemias** pueden diferenciarse con base en si los enfermos excretan cantidades normales o excesivas de uratos totales. Algunas hiperuricemias reflejan defectos enzimáticos específicos. Otras son consecutivas a enfermedades como cáncer o psoriasis que aumentan el recambio de tejido.

Síndrome de Lesch-Nyhan

Es una hiperuricemia por producción excesiva, que se caracteriza por episodios frecuentes de litiasis por ácido úrico, y un síndrome raro de automutilación, que refleja un defecto de la **hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa**, una enzima de la recuperación de purina (fig. 33-4). El incremento acompañante del PRPP intracelular causa producción excesiva de purina. Las mutaciones que aminoran o suprimen la actividad de la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa son deleciones, mutaciones por cambio de marco (también conocida como mutación del marco de lectura), sustituciones de bases y empalme aberrante de mRNA.

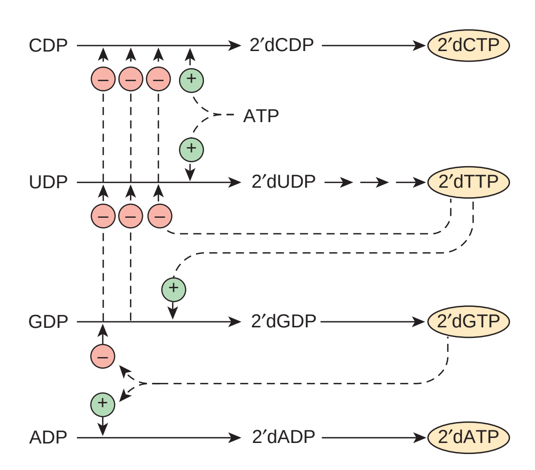


FIGURA 33-10 Control de la biosíntesis de nucleótido pirimidina. Las líneas continuas representan el flujo químico. Las líneas discontinuas de color verde representan regulación por retroacción positiva, y las de color rojo, retroacción negativa.

Enfermedad de von Gierke

La producción excesiva de purina y la hiperuricemia en la enfermedad de von Gierke **(deficiencia de glucosa-6-fosfatasa)** son una consecuencia de generación aumentada del precursor de PRPP ribosa 5-fosfato. Una acidosis láctica relacionada incrementa el umbral renal para urato, lo que aumenta los uratos corporales totales.

Hipouricemia

La hipouricemia y la excreción incrementada de hipoxantina y xantina muestran vínculo con **deficiencia de xantina oxidasa** (fig. 33-11) debido a un defecto genético o a daño hepático grave. Los individuos con una deficiencia enzimática grave pueden tener xantinuria o litiasis por xantina.

Deficiencia de adenosina desaminasa y de nucleósido purina fosforilasa

La **deficiencia de adenosina desaminasa** (fig. 33-11) se relaciona con una enfermedad por inmunodeficiencia en la cual los linfocitos derivados tanto del timo (células T) como de la médula ósea (células B) son escasos y disfuncionales. Los afectados sufren inmunodeficiencia grave. En ausencia de remplazo de enzima o de trasplante de médula ósea, los lactantes suelen sucumbir a infecciones mortales. La **deficiencia de nucleósido purina fosforilasa** muestra vínculo con una deficiencia grave de células T pero función de células B al parecer normal. Las disfunciones inmunitarias parecen depender de acumulación de dGTP y dATP, que inhiben la ribonucleótido reductasa y, de esta manera, agotan los precursores de DNA en las células.

FIGURA 33-11 Formación de ácido úrico a partir de nucleósidos purina por la vía de las bases purina hipoxantina, xantina y guanina. Los purina desoxirribonucleósidos son degradados por la misma vía catabólica y por las mismas enzimas, todas las cuales existen en la mucosa del tubo digestivo de mamíferos.

EL CATABOLISMO DE PIRIMIDINAS PRODUCE METABOLITOS HIDROSOLUBLES

Al contrario de los productos terminales del catabolismo de la purina, los productos terminales del catabolismo de la pirimidina son los productos muy hidrosolubles CO_2, NH_3, β-alanina y β-aminoisobutirato (fig. 33-12). Los seres humanos transaminan el β-aminoisobutirato hacia metilmalonato semialdehído, que a continuación forma succinil-CoA (fig. 20-2).

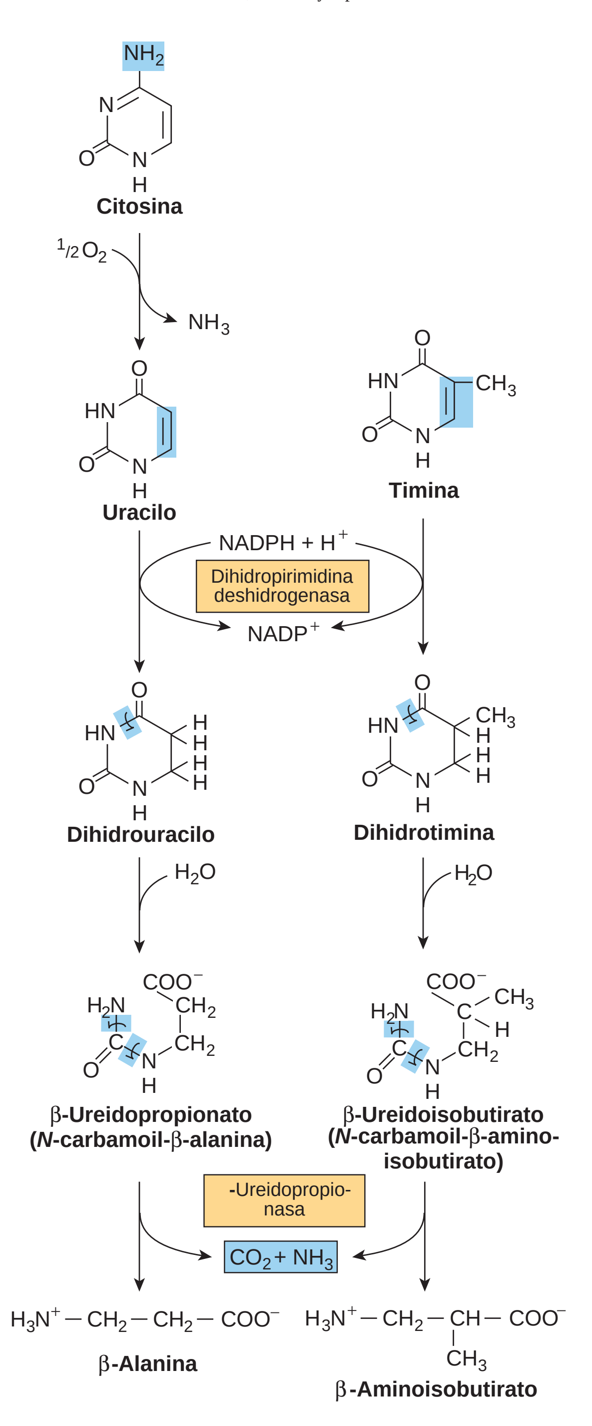


FIGURA 33-12 Catabolismo de las pirimidinas. La β-ureidopropionasa hepática cataliza la formación tanto de β-alanina como de β-aminoisobutirato a partir de sus precursores de pirimidina.

La excreción de β-aminoisobutirato aumenta en la leucemia y en la exposición grave a rayos X, debido al incremento de la destrucción de DNA. Aun así, muchas personas de ascendencia china o japonesa excretan de modo sistemático β-aminoisobutirato. Los trastornos del metabolismo de la β-alanina y del β-aminoisobutirato surgen por defectos de las enzimas del catabolismo de pirimidina. Éstos comprenden **aciduria β-hidroxibutírica**, un trastorno debido a deficiencia total o parcial de la enzima **dihidropirimidina deshidrogenasa** (fig. 33-12). La enfermedad genética refleja una falta de la enzima. Un trastorno del catabolismo de pirimidina, también conocido como uraciluria-timinuria combinada, es asimismo un trastorno del metabolismo de β-aminoácido, puesto que la *formación* de β-alanina y de β-aminoisobutirato está alterada. Cuando se debe a un error congénito hay serias complicaciones neurológicas. Una forma no genética se desencadena por la administración del fármaco anticáncer 5-fluorouracilo (fig. 32-13) a pacientes que tienen concentraciones bajas de dihidropirimidina deshidrogenasa.

La seudouridina se excreta sin cambios

Dado que en seres humanos ninguna encima cataliza la hidrólisis o la fosforólisis de la seudouridina, este nucleósido poco común se excreta sin cambios en la orina de individuos normales y, de hecho, se aisló primero a partir de la orina.

LA PRODUCCIÓN EXCESIVA DE CATABOLITOS DE PIRIMIDINA SÓLO RARA VEZ SE RELACIONA CON ANORMALIDADES IMPORTANTES EN CLÍNICA

Dado que los productos terminales del catabolismo de la pirimidina son muy hidrosolubles, la producción excesiva de pirimidina suscita pocos signos o síntomas clínicos. En la hiperuricemia vinculada con producción excesiva grave de PRPP, hay producción exagerada de nucleótidos pirimidina y excreción aumentada de β-alanina. Dado que se necesita N^5,N^{10}-metileno-tetrahidrofolato para la síntesis del timidilato, los trastornos del metabolismo del folato y de la vitamina B_{12} producen deficiencias de TMP.

Acidurias oróticas

La aciduria orótica que acompaña al **síndrome de Reye** probablemente es una consecuencia de la incapacidad de mitocondrias dañadas de manera grave para usar carbamoil fosfato, que entonces queda disponible para la producción citosólica excesiva de ácido orótico. La **aciduria orótica tipo I** refleja una deficiencia tanto de orotato fosforribosiltransferasa como de orotidilato descarboxilasa (reacciones y , fig. 33-9); la **aciduria orótica tipo II**, más rara, se debe a una deficiencia sólo de orotidilato descarboxilasa (reacción , fig. 33-9).

La deficiencia de una enzima del ciclo de la urea ocasiona excreción de precursores de pirimidina

La excreción incrementada de ácido orótico, uracilo y uridina acompaña a una deficiencia de ornitina transcarbamoilasa en las mitocondrias del hígado (reacción , fig. 28-9). El carbamoil fosfato excesivo sale hacia el citosol, donde estimula la biosíntesis de nucleótido pirimidina. Los alimentos con alto contenido de nitrógeno aumentan la **aciduria orótica** leve resultante.

La aciduria orótica puede precipitarse por fármacos

El **alopurinol** (fig. 32-13), un sustrato alternativo para la orotato fosforribosiltransferasa (reacción , fig. 33-9), compite con el ácido orótico. El producto nucleótido resultante también inhibe a la orotidilato descarboxilasa (reacción , fig. 33-9), lo que da por resultado **aciduria orótica** y **orotidinuria**. La 6-azauridina, después de conversión en 6-azauridilato, también inhibe de manera competitiva a la orotidilato descarboxilasa (reacción , fig. 33-9), lo que incrementa la excreción de ácido orótico y orotidina.

RESUMEN

- Los ácidos nucleicos ingeridos se degradan hacia purinas y pirimidinas. Se forman nuevas purinas y pirimidinas a partir de intermediarios an bólicos y, de este modo, son no esenciales en la dieta.
- Varias reacciones de la biosíntesis del IMP requieren derivados del folato y glutamina. En consecuencia, los fármacos antifolato y los análogos de la glutamina inhiben la biosíntesis de purina.
- La oxidación y aminación del IMP forman AMP y GMP, y la transferencia subsiguiente de fosforilo desde el ATP forma ADP y GDP. La transferencia adicional de fosforilo desde ATP hacia GDP forma GTP. El ADP se convierte en ATP mediante fosforilación oxidativa. La reducción de NDP forma dNDP.
- La biosíntesis hepática de nucleótido purina está estrictamente regulada por el tamaño del fondo común de PRPP y por inhibición por retroacción de la PRPP-glutamil amidotransferasa por el AMP y GMP.
- La regulación coordinada de la biosíntesis de nucleótido purina y pirimidina asegura su presencia en proporciones apropiadas para la biosíntesis de ácido nucleico y otras necesidades metabólicas.
- Los seres humanos catabolizan las purinas hacia ácido úrico (pK_a de 5.8), presente como el ácido relativamente insoluble a pH ácido o como su sal urato de sodio más soluble a un pH cercano a la neutralidad. Los cristales de urato son diagnósticos de gota. Otros trastornos del catabolismo de la purina son el síndrome de Lesch–Nyhan, la enfermedad de von Gierke y las hipouricemias.
- Puesto que los catabolitos de la pirimidina son hidrosolubles, su producción excesiva no origina anormalidades clínicas. Como quiera que sea, la excreción de precursores de pirimidina puede depender de una de ciencia de la ornitina transcarbamoilasa porque el carbamoil fosfato excesivo está disponible para la biosíntesis de pirimidina.

REFERENCIAS

Chow EL et al: Reassessing Reye syndrome. Arch Pediatr Adolesc Med 2003;157:1241.

Christopherson RI, Lyons SD, Wilson PK: Inhibitors of *de novo* nucleotide biosynthesis as drugs. Acc Chem Res 2002;35:961.

Kamal MA, Christopherson RI: Accumulation of 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate in human CCRF-CEM leukemia cells treated with antifolates. Int J Biochem Cell Biol 2004;36:957.

Lipkowitz MS et al: Functional reconstitution, membrane targeting, genomic structure, and chromosomal localization of a human urate transporter. J Clin Invest 2001;107:1103.

Martinez J et al: Human genetic disorders, a phylogenetic perspective. J Mol Biol 2001;308:587.

Moyer RA, John DS: Acute gout precipitated by total parenteral nutrition. J Rheumatol 2003;30:849.

Nofech-Mozes Y et al: Neurologic abnormalities in patients with adenosine deaminase deficiency. Pediatr Neurol 2007;37:218.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001.

Torres RJ, Puig JG: Hypoxanthine-guanine phosophoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch–Nyhan syndrome. Orphanet J Rare Dis 2007;2:48.

Wu VC et al: Renal hypouricemia is an ominous sign in patients with severe acute respiratory syndrome. Am J Kidney Dis 2005;45:88.

CAPÍTULO

34

Estructura y función del ácido nucleico

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

El descubrimiento de que la información genética está codificada a lo largo de una molécula polimérica compuesta de sólo cuatro tipos de unidades monoméricas fue uno de los principales logros científicos del siglo xx. Esta molécula polimérica, el **ácido desoxirribonucleico (DNA)**, es la base química de la herencia, y está organizada en genes, las unidades fundamentales de la información genética. Se ha dilucidado la vía de información básica —es decir, el DNA, que dirige la síntesis de RNA, que a su vez dirige y regula la síntesis de proteína—. Los genes no funcionan de modo autónomo; su replicación y función están controladas por diversos productos génicos, a menudo en colaboración con componentes de diversas vías de transducción de señal. El conocimiento de la estructura y función de los ácidos nucleicos es esencial para entender los aspectos genéticos y muchos aspectos de la fisiopatología, así como la base genética de la enfermedad.

EL DNA CONTIENE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

En 1944, en una serie de experimentos efectuados por Avery, MacLeod y McCarty, se demostró por vez primera que el DNA contiene la información genética. Mostraron que la determinación genética de un rasgo (el tipo) de la cápsula de un neumococo específico podía transmitirse a otro tipo capsular diferente al introducir DNA purificado desde el primer coco hacia el segundo. Estos autores denominaron "factor transformador" al agente que lograba el cambio (que más tarde se mostró que es el DNA). Después, este tipo de manipulación genética se ha hecho común. Recientemente se han llevado a cabo experimentos similares utilizando levaduras, células en cultivo de vegetales y mamíferos, y embriones de insectos y de mamíferos como receptores, y moléculas de DNA clonado como donadores de información genética.

El DNA contiene cuatro desoxinucleótidos

La naturaleza química de las unidades de desoxinucleótido monoméricas del DNA —**desoxiadenilato**, **desoxiguanilato**, **desoxicitidilato** y **timidilato**— se describe en el capítulo 32. Estas unidades monoméricas del DNA se mantienen en forma polimérica por medio de enlaces 3′,5′-fosfodiéster que constituyen una cadena única (fig. 34-1). El contenido informacional del DNA (el código genético) reside en la secuencia en la cual están ordenados estos monómeros —purina y pirimidina desoxirribonucleótidos—. El polímero como se describe posee una polaridad; un extremo tiene un 5′-hidroxilo o fosfato terminal, mientras que el otro tiene un grupo 3′-fosfato o hidroxilo terminal. La importancia de esta polaridad es evidente. Dado que la información genética reside en el orden de las unidades monoméricas dentro de los polímeros, es necesario que haya un mecanismo para reproducir o replicar esta información específica con un alto grado de fidelidad. Ese requerimiento, junto con datos de difracción con rayos X de la molécula de DNA, y la observación de Chargaff de que en las moléculas de DNA la concentración de nucleótidos desoxiadenosina (A) es igual a la de nucleótidos timidina (T) (A = T), mientras que la de nucleótidos desoxiguanosina (G) es igual a la de nucleótidos desoxicitidina (C) (G = C), condujeron a Watson, Crick y Wilkins a proponer a principios del decenio de 1950 un modelo de una molécula de DNA bicatenario. El modelo que propusieron se presenta en la figura 34-2. Las dos cadenas de esta hélice bicatenaria se mantienen en registro por medio tanto de **enlaces de hidrógeno** entre las bases purina y pirimidina de las moléculas lineales respectivas, como de **interacciones de van der Waals** e **hidrofóbicas** entre los pares de bases adyacentes apiladas. La formación de pares entre los nucleótidos purina y pirimidina en las cadenas opuestas es muy específica, y depende de enlaces de hidrógeno de **A con T** y de **G con C** (fig. 34-2).

Se dice que esta forma común de DNA gira hacia la derecha porque al mirar la doble hélice desde arriba, las bases componentes forman una espiral en el sentido de las manecillas del reloj. En la molécula bicatenaria, las restricciones impuestas por la rotación alrededor del enlace fosfodiéster, la anticonfiguración favorecida del enlace glucosídico (fig. 32-5), y los tautómeros predominantes (fig. 32-2) de las cuatro bases (A, G, T y C) permiten que A únicamente forme par con T, y que G sólo forme par con C (fig. 34-3). Esta restricción de la formación de pares de bases explica la observación más temprana de que en una molécula de DNA bicatenario el contenido de A es igual al de T, y el de G es igual al de C. Las dos cadenas de la molécula de doble hélice, cada una de las cuales posee una polaridad, son **antiparalelas**; esto es, una cadena corre en la dirección de 5′ a 3′, y la otra en la dirección de 3′ a 5′. En las moléculas de DNA bicatenario, la información genética reside en la secuencia de nucleótidos en una cadena, la **cadena molde**. Ésta es la cadena de DNA que se copia durante la síntesis de **ácido ribonucleico (RNA)**. A veces se llama cadena **no codificadora**. La cadena opuesta se considera la **cadena codificadora** porque coincide con la secuencia de la transcripción de RNA (pero contiene uracilo en lugar de timina; fig. 34-8) que codifica para la proteína.

FIGURA 34-1 Un segmento de una cadena de una molécula de DNA en el cual las bases purinas y pirimidinas: guanina (G), citosina (C), timina (T) y adenina (A), se mantienen juntas mediante un esqueleto fosfodiéster entre las porciones 2'-desoxirribosilo fijas a las nucleobases por medio de un enlace *N*-glucosídico. Note que el esqueleto tiene una polaridad (esto es, una dirección). La convención dicta que una secuencia de DNA de una sola cadena está escrita en la dirección 5' a 3' (o sea, pGpCpTpA, donde G, C, T y A representan las cuatro bases, y P representa los fosfatos que se interconectan).

Las dos cadenas, en las cuales bases opuestas se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno intercatenarios, giran alrededor de un eje central en la forma de una **doble hélice**. En el tubo de ensayo el DNA bicatenario puede existir en al menos seis formas (A a E, y Z). La forma B por lo general se encuentra en condiciones fisiológicas (baja salinidad, alto grado de hidratación). Un solo giro de DNA B alrededor del eje largo de la molécula contiene 10 pares de bases. La distancia abarcada por un giro del DNA B es de 3.4 nm (34 Å). La anchura (el diámetro de la hélice) de la doble hélice en el DNA B es de 2 nm (20 Å).

Tres enlaces de hidrógeno, formados por hidrógeno unido a átomos de N u O electronegativos (fig. 34-3), sujetan el nucleótido desoxiguanosina al nucleótido desoxicitidina, mientras que dos enlaces de hidrógeno mantienen junto el otro par, el par A-T. Así, los enlaces G-C son más resistentes a la desnaturalización, o separación de cadena, denominada "fusión", que las regiones de DNA con alto contenido de A-T.

La desnaturalización de DNA se usa para analizar su estructura

La estructura bicatenaria del DNA puede separarse en dos cadenas componentes en solución al aumentar la temperatura o disminuir las cifras de sales. Las dos pilas de bases no sólo se separan, sino que las bases mismas se desapilan mientras que aún están conectadas en el polímero por el esqueleto fosfodiéster. Concomitante con esta desnaturalización de la molécula de DNA hay un incremento de la absorbancia óptica de las bases purina y pirimidina, fenómeno llamado **hipercromicidad** de la desnaturalización. Debido al apilamiento de las bases y a la formación de enlaces de hidrógeno entre las pilas, la molécula de DNA bicatenario muestra propiedades de una varilla rígida, y en solución es un material viscoso que pierde su viscosidad en el momento de la desnaturalización.

Las cadenas de una molécula de DNA dada se separan en un rango de temperatura. El punto medio se denomina la **temperatura de fusión**, **o T_m**. La T_m está influida por la composición de bases del DNA y por la concentración de sales de la solución. El DNA rico en pares G-C, que tienen tres enlaces de hidrógeno, se fusiona a una temperatura más alta que el que abunda en pares A-T, que tienen dos enlaces de hidrógeno. Un aumento de 10 veces las cifras de cationes monovalentes incrementa la T_m en 16.6°C. El disolvente orgánico formamida, que a menudo se usa en experimentos de DNA recombinante, desestabiliza los enlaces de hidrógeno entre las bases, y por eso aminora la T_m. Esto permite que las cadenas de DNA o los híbridos de DNA-RNA se separen a temperaturas mucho más bajas, y minimiza la rotura de enlaces fosfodiéster que puede ocurrir a temperaturas más altas.

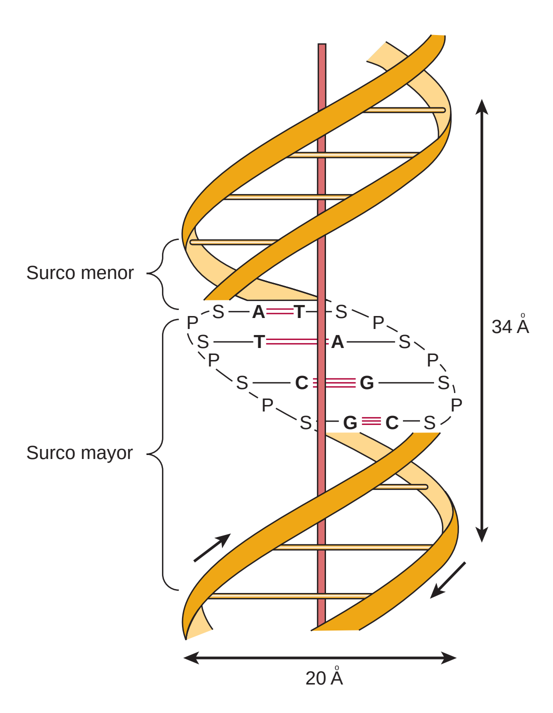
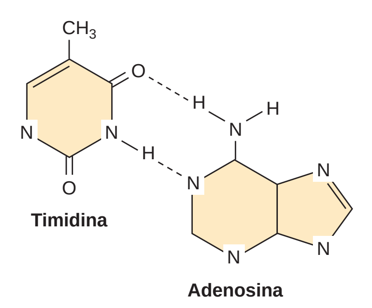


FIGURA 34-2 Diagrama que representa el modelo de Watson y Crick de la estructura de doble hélice de la forma B del DNA. La flecha horizontal indica la anchura de la doble hélice (20 Å), y la flecha vertical indica la distancia abarcada por un giro completo de la doble hélice (34 Å). Un giro del B-DNA incluye 10 pares de bases (bp), de manera que el aumento es de 3.4 Å por bp. La varilla vertical indica el eje central de la doble hélice. Las flechas cortas designan la polaridad de las cadenas antiparalelas. Se muestran los surcos mayor y menor. (A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina; P, fosfato; S, azúcar [desoxirribosa].) Las líneas horizontales, cortas, de color rojo, indican los enlaces de hidrógeno entre bases A/T y G/C.



Citosina

Guanosina

FIGURA 34-3 La formación de pares de bases de DNA entre adenosina y timidina comprende la formación de dos enlaces de hidrógeno. Tres de esos enlaces se forman entre la citidina y guanosina. Las líneas discontinuas representan enlaces de hidrógeno.

La renaturalización del DNA requiere coincidencia de pares de bases

Es importante señalar que las cadenas separadas de DNA se renaturalizarán o reasociarán cuando se logren condiciones de temperatura y sales fisiológicas apropiadas; este proceso de realineamiento suele llamarse **hibridación**. El índice de reasociación depende de la concentración de las cadenas complementarias. La reasociación de las dos cadenas de DNA complementarias de un cromosoma luego de transcripción es un ejemplo fisiológico de renaturalización (véase más adelante). A una temperatura y concentración de sal dadas, una cadena de ácido nucleico particular se asociará de manera estrecha sólo con una cadena complementaria. Las moléculas híbridas también se formarán en condiciones apropiadas. Por ejemplo, el DNA formará un híbrido, con un DNA complementario (cDNA) o con un RNA mensajero (mRNA; véase más adelante) cognado. Cuando se combinan con técnicas de electroforesis en gel que separan ácidos nucleicos por tamaño, junto con marcado radiactivo o fluorescente para proporcionar una señal detectable, las técnicas analíticas resultantes se denominan **electrotransferencia tipo Southern (DNA/DNA)** y **tipo Northern (RNA-DNA)**, respectivamente. Estos procedimientos permiten identificación muy clara, y muy sensible, de especies de ácidos nucleicos específicas a partir de mezclas complejas de DNA o RNA (cap. 39).

La molécula de DNA tiene surcos

El examen cuidadoso del modelo descrito en la figura 34-2 revela un **surco mayor** y un **surco menor** que dan vueltas a lo largo de la molécula paralelos a los esqueletos fosfodiéster. En estos surcos, las proteínas pueden interactuar de modo específico con átomos expuestos de los nucleótidos (por medio de interacciones hidrofóbicas y iónicas específicas) y por ello reconocen, y se unen a, secuencias de nucleótido específicas, regularmente sin alterar la formación de pares de bases de la molécula de DNA de doble hélice. Proteínas reguladoras controlan la expresión de genes específicos mediante esas interacciones (caps. 36 y 38).

El DNA existe en formas relajada y superenrollada

En algunos organismos, como bacterias, bacteriófagos, muchos virus de animales que contienen DNA, así como organelos como las mitocondrias (fig. 35-8), los extremos de las moléculas de DNA están unidos para crear un círculo cerrado sin extremos libres de enlaces covalentemente. Claro que esto no destruye la polaridad de las moléculas, pero elimina todos los grupos hidroxilo y fosforilo 3′ y 5′. Los círculos cerrados existen en formas relajada y superenrollada. Las superhélices se introducen cuando un círculo cerrado se gira alrededor de su propio eje o cuando un fragmento lineal del DNA dúplex, cuyos extremos están fijos, se tuerce. Este proceso que necesita energía coloca a la molécula bajo tensión de torsión, y mientras mayor es el número de superhélices, mayor es la tensión o torsión (como ocurre al torcer una bandera de caucho). Las **superhélices negativas** se forman cuando la molécula se tuerce en la dirección opuesta desde las vueltas en la dirección de las manecillas del reloj de la doble hélice dextrógira que se encuentra en el DNA B. Se dice que ese DNA está subgirado. La energía requerida para lograr este

estado se encuentra, en cierto sentido, almacenada en las superhélices. Por ello, el subgiro facilita la transición hacia otra forma que requiere energía. Una transición de ese tipo es la separación de cadena, que es un prerrequisito para la replicación y transcripción del DNA. En consecuencia, el DNA superenrollado es una forma preferida en sistemas biológicos. Las enzimas que catalizan cambios topológicos del DNA se llaman **topoisomerasas**, las cuales pueden relajar o insertar superhélices, usando ATP como una fuente de energía. Hay homólogos de esta enzima en todos los organismos, y son blancos importantes de la quimioterapia de cáncer.

EL DNA PROPORCIONA UN MOLDE PARA REPLICACIÓN Y TRANSCRIPCIÓN

La información genética almacenada en la secuencia de nucleótido del DNA tiene dos propósitos. Es la fuente de información para la síntesis de todas las moléculas de proteína de la célula y el organismo, y proporciona la información heredada por células hijas o por la descendencia. Ambas funciones requieren que la molécula de DNA sirva como un molde, en el primer caso para la transcripción de la información hacia el RNA, y en el segundo para la replicación de la información hacia moléculas de DNA hijas.

Cuando cada cadena de la molécula de DNA bicatenario madre se separa desde su complemento en el transcurso de la replicación, cada una sirve de manera independiente como un molde con base en la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (fig. 34-4). Las dos moléculas de DNA bicatenario hijas recién formadas, cada una de las cuales contiene una cadena (pero complementaria más que idéntica) de la molécula de DNA bicatenario madre, a continuación se separan entre las dos células hijas (fig. 34-5). Cada célula hija contiene moléculas de DNA con información idéntica a la que poseía la célula madre; sin embargo, en cada célula hija la molécula de DNA de la célula madre únicamente se ha semiconservado.

LA NATURALEZA QUÍMICA DEL RNA DIFIERE DE LA DEL DNA

El ácido ribonucleico (RNA) es un polímero de purina y pirimidina ribonucleótidos unidos entre sí por enlaces 3′,5′-fosfodiéster

FIGURA 34-4 La estructura bicatenaria del DNA y la función de molde de cada cadena vieja (anaranjada) sobre la cual se sintetiza una nueva cadena complementaria (azul).

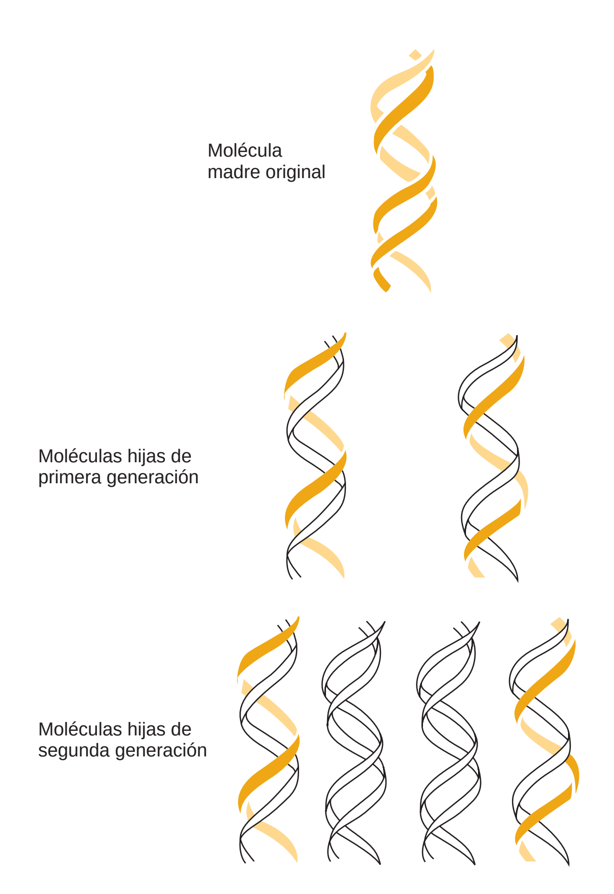


FIGURA 34-5 La replicación del DNA es semiconservadora. Durante una ronda de replicación, cada una de las dos cadenas de DNA se usa como un molde para la síntesis de una nueva cadena complementaria.

FIGURA 34-6 Un segmento de una molécula de ácido ribonucleico (RNA) en el cual las bases purina y pirimidina —guanina (G), citosina (C), uracilo (U) y adenina (A)— se mantienen juntas mediante enlaces fosfodiéster entre porciones ribosilo fijas a las nucleobases por medio de enlaces *N*-glucosídicos. Note que el polímero tiene una polaridad según lo indican los fosfatos marcados fijos a 3' y 5'.

análogos a los que están en el DNA (fig. 34-6). Aun cuando comparte muchas características con el DNA, el RNA posee varias diferencias específicas:

1. En el RNA, la parte azúcar a la cual los fosfatos y las bases púricas y pirimídicas se fijan es ribosa en lugar de la 2′-desoxirribosa del DNA.
2. Los componentes pirimídicos del RNA difieren de los del DNA. Si bien el RNA contiene los ribonucleótidos de adenina, guanina y citosina, no posee timina excepto en el raro caso que se menciona más adelante. En lugar de timina, el RNA contiene el ribonucleótido de uracilo.
3. El RNA típicamente existe como una cadena única, mientras que el DNA existe como una molécula helicoidal bicatenaria. Empero, dada la secuencia de bases complementaria apropiada con polaridad opuesta, la cadena única de RNA —como se demuestra en la figura 34-7— tiene la capacidad de plegarse sobre sí misma a manera de horquilla y, de este modo, adquirir características bicatenarias: la base G que forma pares con C, y A con U.
4. Puesto que la molécula de RNA es una cadena única complementaria a sólo una de las dos cadenas de un gen, su contenido de guanina no necesariamente es igual a su contenido de citosina, ni su contenido de adenina es necesariamente igual a su contenido de uracilo.
5. Los álcalis pueden hidrolizar al RNA hacia diésteres 2′,3′ cíclicos de los mononucleótidos, compuestos que no se pueden formar a partir de DNA tratado con álcali debido a la ausencia de un grupo 2′-hidroxilo. La labilidad del RNA a álcali es útil con fines tanto diagnósticos como analíticos.

La información dentro de la cadena única de RNA está contenida en su secuencia (“estructura primaria”) de nucleótidos purina y pirimidina dentro del polímero. La secuencia es complementaria a la cadena molde del gen a partir del cual se transcribió. Debido a esta complementariedad, una molécula de RNA puede unirse de manera específica por medio de las reglas de formación de pares de bases a su cadena de DNA molde; no se unirá (“hibridará”) con la otra cadena (codificadora) de su gen. La secuencia de la molécula de RNA (salvo por U que remplaza a T) es la misma que la de la cadena codificadora del gen (fig. 34-8).

Casi todas las especies de RNA participan en algún aspecto de la síntesis de proteína

Las moléculas de RNA citoplásmico que sirven como moldes para la síntesis de proteína (es decir, que transfieren información genética desde el DNA hacia la maquinaria sintetizadora de proteína) se designan **RNA mensajeros**, o **mRNA**. Muchas otras moléculas de RNA citoplásmicas muy abundantes **(RNA ribosómicos**; **rRNA)**

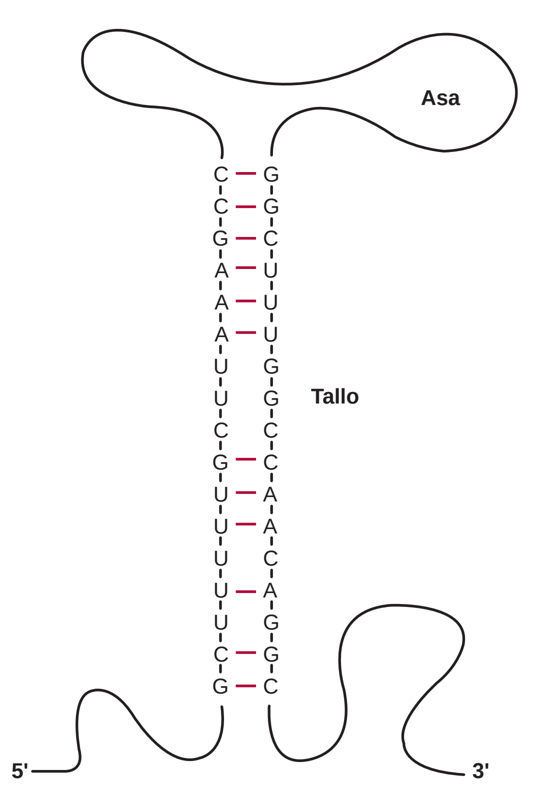


FIGURA 34-7 Diagrama que representa la estructura secundaria de una molécula de RNA de cadena única en la cual se ha formado un tallo con asa, u "horquilla". La formación de esta estructura depende de la formación intramolecular de pares de base indicada (líneas horizontales coloreadas entre las bases). Note que A forma enlaces de hidrógeno con U en el RNA.

tienen funciones estructurales en donde contribuyen a la formación y función de ribosomas (la maquinaria en el ámbito de organelo para la síntesis de proteína) o sirven como moléculas adaptadoras **(RNA de transferencia**; **tRNA)** para la traducción de información del RNA hacia secuencias específicas de aminoácidos polimerizados.

Es interesante que algunas moléculas de RNA tienen actividad catabólica intrínseca. La actividad de estas **ribozimas** a menudo incluye la división de un ácido nucleico. Dos enzimas de RNA bien estudiadas, o ribozimas, son la peptidil transferasa que cataliza la formación de enlaces peptídicos en el ribosoma, y ribozimas involucradas en el empalme del RNA.

En todas las células eucarióticas hay especies de **RNA nuclear pequeño (snRNA)** que no participan de modo directo en la síntesis de proteína pero desempeñan funciones cruciales en el procesamiento del RNA. El tamaño de estas moléculas relativamente pequeñas varía desde 90 hasta alrededor de 300 nucleótidos (cuadro 34-1).

CUADRO 34-1 Algunas de las especies de RNA estables pequeñas que se encuentran en células de mamífero

Nombre	Longitud (nucleótidos)	Moléculas por célula	Localización
U1	165	1×10^6	Nucleoplasma
U2	188	5×10^5	Nucleoplasma
U3	216	3×10^5	Nucleolo
U4	139	1×10^5	Nucleoplasma
U5	118	2×10^5	Nucleoplasma
U6	106	3×10^5	Gránulos pericromatina
4.5S	95	3×10^5	Núcleo y citoplasma
7SK	280	5×10^5	Núcleo y citoplasma

El material genético para algunos virus de animales y vegetales es RNA en lugar de DNA. Aunque algunos virus RNA nunca transcriben su información hacia una molécula de DNA, muchos virus RNA de animales —en específico, los retrovirus (p. ej., el VIH)— se transcriben mediante **DNA polimerasa dependiente de RNA viral**, **la denominada transcriptasa inversa**, para producir una copia de DNA bicatenario de su genoma de RNA. En muchos casos, la transcripción de DNA de doble cadena resultante se integra en el genoma del huésped y después sirve como un molde para la expresión de gen a partir de la cual pueden transcribirse nuevos genomas de RNA viral y mRNA virales.

Hay varias clases de RNA

En todos los organismos procarióticos y eucarióticos hay cuatro clases principales de moléculas de RNA: mensajero (mRNA), de transferencia (tRNA), ribosómico (rRNA) y RNA pequeños. Cada uno difiere de los otros en su abundancia, tamaño, función y estabilidad general.

RNA mensajero (mRNA)

Esta clase es la de abundancia, tamaño y estabilidad más heterogéneos; por ejemplo, en la levadura de cerveza mRNA específicos están presentes en cientos/célula hasta, en promedio, ≤0.1 mRNA/

Cadenas de DNA:

Codificadora → 5′ —T G G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T T C A C A C A G G A A A C A G C T A T G A C C A T G— 3′
Molde → 3′ —A C C T T A A C A C T C G C C T A T T G T T A A A G T G T G T C C T T T G T C G A T A C T G G T A C— 5′

Transcripción de RNA: 5′ —— ppp A U U G U G A G C G G A U A A C A A U U U C A C A C A G G A A A C A G C U A U G A C C A U G 3′

FIGURA 34-8 La relación entre las secuencias de una transcripción de RNA y su gen, en la cual las cadenas codificadora y molde se muestran con sus polaridades. La transcripción de RNA con una polaridad 5' a 3' es complementaria a la cadena molde con su polaridad 3' a 5'. Note que la secuencia en la transcripción de RNA y su polaridad es la misma que la que hay en la cadena codificadora, salvo porque la U de la transcripción remplaza a la T del gen.

FIGURA 34-9 La expresión de información genética en el DNA hacia la forma de una transcripción de mRNA. Los ribosomas después traducen esto hacia una molécula de proteína específica.

célula. Mecanismos tanto transcripcionales como postranscripcionales específicos contribuyen a este rango dinámico grande en el contenido de mRNA (caps. 36 y 38). En células de mamífero la abundancia de mRNA probablemente varía en un rango de 10^4 veces. Todos los miembros de la clase funcionan como mensajeros que transmiten la información en un gen hacia la maquinaria sintetizadora de proteína, donde cada mRNA sirve como un molde con base en la cual una secuencia específica de aminoácidos se polimeriza para formar una molécula de proteína específica, el producto final de gen (fig. 34-9).

Los mRNA eucarióticos tienen características químicas singulares. El extremo terminal 5′ del mRNA está "cubierto" por un 7-metilguanosina trifosfato que está enlazado a un 2′-*O*-metil ribonucleósido adyacente en su 5′-hidroxilo por medio de los tres fosfatos (fig. 34-10). Las moléculas de mRNA suelen contener 6-metiladenilatos internos y otros nucleósidos 2′-*O*-ribosa metilados. La cubierta participa en el reconocimiento del mRNA por la maquinaria de traducción, y ayuda también a estabilizar el mRNA al evitar el ataque de 5′-exonucleasas. La maquinaria sintetizadora de proteína empieza a traducir el mRNA hacia proteínas empezando torrente abajo de la terminal 5′ o cubierta. El otro extremo de las moléculas de mRNA, el 3′-hidroxilo terminal, tiene un polímero fijo de residuos adenilato de 20 a 250 nucleótidos de longitud. La "cola" poli(A) en el 3′-hidroxilo terminal de mRNA mantiene la estabilidad intracelular del mRNA específico al impedir el ataque de 3′-exonucleasas y facilita también la traducción (fig. 37-7). Algunos mRNA, incluso aquellos para algunas histonas, no contienen una cola poli(A). Tanto la "cubierta" como la "cola poli(A)" de mRNA se agregan luego de la transcripción por enzimas no dirigidas por el molde a moléculas precursoras de mRNA (pre-mRNA). El mRNA representa 2 a 5% del RNA total de células eucarióticas.

En células de mamífero, incluso las de seres humanos, las moléculas de mRNA presentes en el citoplasma no son los productos del RNA inmediatamente sintetizados a partir del molde de DNA, sino que deben formarse por procesamiento desde el pre-RNA antes de que entre al citoplasma. De esta manera, en núcleos de mamífero, los productos inmediatos de la transcripción de gen (transcritos primarios) son muy heterogéneos y pueden ser más de 10 a 50 veces más largos que las moléculas de mRNA maduras. Las moléculas de pre-mRNA se procesan para generar las moléculas de mRNA que después entran al citoplasma para servir como moldes para la síntesis de proteína (cap. 36).

RNA de transferencia (tRNA)

La longitud de las moléculas de tRNA varía desde 74 hasta 95 nucleótidos. También se generan por procesamiento nuclear de una molécula precursora (cap. 36). Las moléculas de tRNA sirven como adaptadoras para la traducción de la información en la secuencia de nucleótidos del mRNA hacia aminoácidos específicos. Hay al menos 20 especies de moléculas de tRNA en cada célula, y por lo menos una (y a menudo varias) corresponde a cada uno de los 20 aminoácidos requeridos para la síntesis de proteína. Aun cuando cada tRNA específico difiere de los otros en su secuencia de nucleótidos, las moléculas de tRNA como clase tienen muchas características en común. La estructura primaria —es decir, la secuencia de nucleótido— de todas las moléculas de tRNA permite plegamientos y complementariedad intracatenaria extensos para generar una estructura secundaria que aparece en dos dimensiones como una hoja de trébol (fig. 34-11).

Todas las moléculas de tRNA contienen cuatro brazos principales. El **brazo aceptor** termina en los nucleótidos CpCpAOH. Una enzima nucleotidil transferasa específica añade estos tres nucleótidos luego de la transcripción. El aminoácido apropiado para el tRNA se fija, o "carga" sobre el grupo 3′-OH de la porción A del brazo aceptor (fig. 37-1). Los **brazos D**, **TψC** y **extra** ayudan a definir un tRNA específico. Los tRNA constituyen a grandes rasgos 20% del RNA celular total.

RNA ribosómico (rRNA)

Un ribosoma es una estructura nucleoproteínica citoplásmica que actúa como la maquinaria para la síntesis de proteínas a partir de los moldes de mRNA. En los ribosomas, las moléculas de mRNA y tRNA interactúan para traducirse hacia una información acerca de molécula de proteína específica transcrita desde el gen. Durante periodos de síntesis activa de proteína, muchos ribosomas pueden asociarse con cualquier molécula de mRNA para formar un montaje llamado el **polisoma** (fig. 37-7).

En el cuadro 34-2 se muestran los componentes del ribosoma de mamífero, que tiene un peso molecular de aproximadamente 4.2×10^6, y un coeficiente de velocidad de sedimentación de 80S (S = unidades Svedberg, un parámetro sensible al tamaño y la forma moleculares). El ribosoma de mamífero contiene dos subunidades nucleoproteínicas principales, una de mayor tamaño con un peso molecular de 2.8×10^6 (60S), y una subunidad de menor tamaño

FIGURA 34-10 La estructura del casquete fija a la terminal 5' de casi todas las moléculas de RNA mensajero eucariótico. Un 7-metilguanosina trifosfato (negro) está fijo en la terminal 5' del mRNA (que se muestra en color), que por lo general también contiene un nucleótido 2'-*O*-metilpurina. Estas modificaciones (el casquete y el grupo metilo) se añaden luego de que el mRNA se transcribe desde el DNA.

con un peso molecular de 1.4 × 10^6 (40S). La unidad 60S contiene un RNA ribosómico (rRNA) 5S, un rRNA 5.8S, y un rRNA 28S; también hay más de 50 polipéptidos específicos. La subunidad 40S es de menor tamaño y contiene un rRNA 18S único, y alrededor de 30 cadenas polipeptídicas distintas. Todas las moléculas de RNA ribosómico, y excepto el rRNA 5S, que se transcribe de modo independiente, se procesan a partir de una molécula de RNA precursora 45S única en el nucléolo (cap. 36). Las moléculas de RNA ribosómico muy metiladas están aglomeradas en el nucléolo con las proteínas ribosómicas específicas. En el citoplasma, los ribosomas permanecen bastante estables y capaces de muchos ciclos de traducción. No se entienden por completo las funciones precisas de las moléculas de RNA ribosómico en la partícula ribosómica, pero se necesitan para el montaje ribosómico, y desempeñan también funciones clave en la unión de mRNA a ribosomas y su traducción. Estudios recientes indican que el componente de rRNA grande realiza la actividad de peptidil transferasa y, así, es una ribozima. Los RNA ribosómicos (28S + 18S) representan a grandes rasgos 70% del RNA celular total.

RNA pequeño

En las células eucarióticas se encuentra gran número de especies de RNA separadas, muy conservadas, y pequeñas; algunas son bastante estables. Casi todas estas moléculas forman complejos con proteínas para formar ribonucleoproteínas, y están distribuidas en el núcleo, el citoplasma, o ambos. Su tamaño varía de 20 a 300 nucleótidos, y

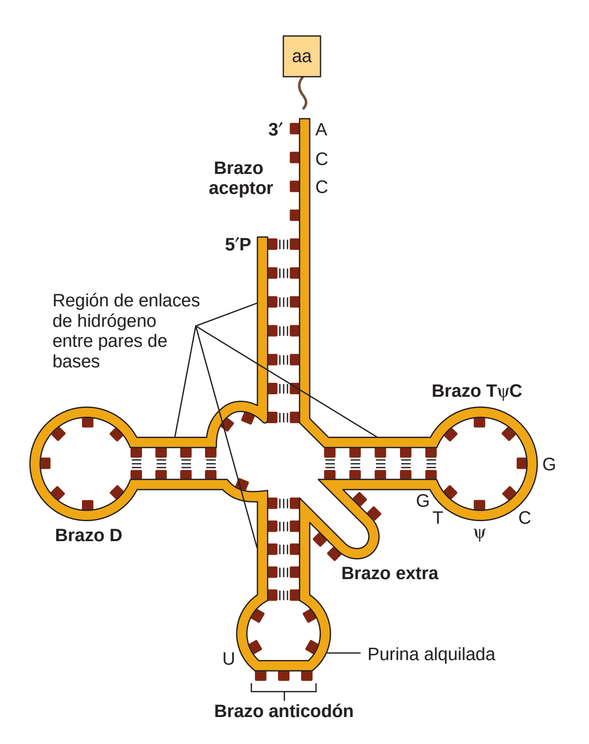


FIGURA 34-11 tRNA aminoacilo típico en el cual el aminoácido (aa) está fijo a la terminal 3′ CCA. El anticodón, TψC, y los brazos dihidrouracilo (D) están indicados, al igual que las posiciones del enlace de hidrógeno intramolecular entre estos pares de bases. ψ es la seudouridina, un isómero de la uridina que se forma después de la transcripción. (Reimpresa, con autorización, de Watson JD: *Molecular Biology of the Gene,* 3rd ed. Copyright © 1976, 1970, 1965, por W.A. Benjamin, Inc., Menlo Park, California.)

están presentes en copias 100 000 a 1 000 000 moléculas por célula, lo que representa en conjunto ≤ 5% del RNA celular.

RNA nucleares pequeños (snRNA)

Los snRNA, un subgrupo de los RNA pequeños, participan de manera importante en el procesamiento de rRNA y mRNA, y en la regulación de gen. De las varias especies de snRNA, el U1, U2, U4, U5 y U6 participan en la eliminación de intrón y en el procesamiento de precursores de mRNA hacia mRNA (cap. 36). El snRNA U7 participa en la producción de los extremos 3′ correctos del mRNA histona, que carece de una cola poli(A). El RNA 7SK se asocia con varias proteínas para formar un complejo de ribonucleoproteína, denominado P-TEFb, que modula el elongamiento de la transcripción de gen de mRNA por la RNA polimerasa II (cap. 36).

Micro-RNA, miRNA y RNA que interfieren pequeños siRNA

Uno de los descubrimientos más interesantes e inesperados en el transcurso del último decenio de la biología reguladora eucariótica fue la identificación y caracterización de miRNA, una clase de RNA pequeños que se encuentra en casi todos los eucariotas (cap. 38). Casi todos los **miRNA y siRNA** conocidos originan inhibición **de la expresión génica** al aminorar la producción de proteína específica, si bien mediante distintos mecanismos. Los miRNA típicamente tienen 21 a 25 nucleótidos de largo, y se generan por medio de procesamiento nucleolítico de diferentes genes o unidades de transcripción (fig. 36-17). Los precursores del miRNA son monocatenarios, pero tienen estructura secundaria intramolecular extensa. El tamaño de estos precursores varía desde aproximadamente 500 hasta 1 000 nucleótidos; **es característico que los miRNA** maduros procesados pequeños **se hibriden mediante la formación de dúplex de RNA-RNA imperfectos dentro de las regiones 3′-no traducidas** (3′UTR; fig. 38-19) de mRNA blanco específicos, **lo que lleva**, **por medio de mecanismos que se entienden poco**, **a detener la traducción**. Hasta la fecha se han descrito cientos de miRNA distintos en seres humanos. Los siRNA se derivan mediante la división nucleolítica específica de RNA bicatenarios de mayor tamaño para formar de nuevo productos pequeños de 21 a 25 nucleótidos de largo. Estos **siRNA** cortos por lo general **forman híbridos RNA-RNA perfectos** con sus potenciales blancos separados en cualquier sitio dentro de la longitud del mRNA donde existe la secuencia complementaria. La formación de esos dúplex RNA-RNA entre siRNA y mRNA causa producción reducida de proteína específica porque maquinaria nucleolítica dedicada **degrada los complejos de siRNA-mRNA**; parte de esta degradación de mRNA, o toda, sucede en organelos citoplásmicos específicos llamados **cuerpos P** (fig. 37-11). Tanto los miRNA como los siRNA representan interesantes nuevos **blancos potenciales para la creación de fármacos terapéuticos**. Además, los siRNA suelen usarse para disminuir o "noquear" ("*knock-down*") concentraciones de proteínas específicas (por medio de degradación de mRNA dirigida hacia homología de siRNA) en contextos experimentales en el laboratorio, una alternativa en extremo útil y potente para la tecnología de noqueo de gen (cap. 39).

CUADRO 34-2 Componentes de ribosomas de mamífero

		Proteína		RNA		
Componente	**Masa (MW)**	**Número**	**Masa**	**Tamaño**	**Masa**	**Bases**
Subunidad 40S	1.4×10^6	33	7×10^5	18S	7×10^5	1 900
Subunidad 60S	2.8×10^6	50	1×10^6	5S	35 000	120
				5.8S	45 000	160
				28S	1.6×10^6	4 700

Nota: las subunidades ribosómicas se de□nen de acuerdo con su velocidad de sedimentación en unidades Svedberg (40S o 60S). Se listan el número de proteínas singulares y su masa total (MW) y los componentes RNA de cada subunidad en tamaño (unidades Svedberg), masa y número.

Despierta interés que las bacterias también contienen RNA reguladores heterogéneos pequeños denominados sRNA. El tamaño de los sRNA bacterianos varía desde 50 hasta 500 nucleótidos, y al igual que los mi/siRNA eucarióticos también controlan una gama grande de genes. De modo similar, los sRNA a menudo reprimen, pero en ocasiones activan, la síntesis de proteína al unirse a mRNA específico.

NUCLEASAS ESPECÍFICAS DIGIEREN A LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Durante muchos años se han reconocido enzimas que tienen la capacidad de degradar ácidos nucleicos; tales nucleasas pueden clasificarse de varias maneras. Las que muestran especificidad por el DNA reciben el nombre de **desoxirribonucleasas**. Las que hidrolizan de modo específico RNA son las **ribonucleasas**. Algunas nucleasas degradan tanto el DNA como el RNA. Dentro de estas clases hay enzimas que tienen la capacidad de romper enlaces fosfodiéster internos para producir terminales 3′-hidroxilo y 5′-fosforilo, o terminales 5′-hidroxilo y 3′-fosforilo, las cuales se denominan **endonucleasas**. Algunas tienen la capacidad de hidrolizar ambas cadenas de una molécula **bicatenaria**, mientras que otras únicamente pueden dividir **cadenas únicas** de ácidos nucleicos. Algunas nucleasas sólo pueden hidrolizar cadenas únicas no pareadas, mientras que otras son capaces de hidrolizar cadenas únicas que participan en la formación de una molécula bicatenaria. Hay clases de endonucleasas que reconocen secuencias específicas en el DNA; casi todas éstas son las **endonucleasas de restricción**, que en los últimos años se han convertido en instrumentos importantes en genética molecular y ciencias médicas. El cuadro 39-2 presenta una lista de algunas de las endonucleasas de restricción reconocidas en la actualidad.

Ciertas nucleasas tienen la capacidad de hidrolizar un nucleótido únicamente cuando está presente en una terminal de una molécula; éstas se llaman **exonucleasas**, y sólo actúan en una dirección (3′ → 5′ o 5′ → 3′). En bacterias, una exonucleasa 3′ → 5′ es una parte integral de la maquinaria de replicación de DNA, y ahí sirve para editar —o corregir pruebas— del desoxinucleótido añadido más recientemente respecto a errores de la formación por apareamiento de bases.

RESUMEN

- El DNA consta de cuatro bases —A, G, C y T— que se mantienen en disposición lineal mediante enlaces fosfodiéster a través de las posiciones 3′ y 5′ de residuos adyacentes de desoxirribosa.
- El DNA se organiza en dos cadenas por medio de la formación de pares de bases A a T y G a C en cadenas complementarias. Estas cadenas forman una doble hélice alrededor de un eje central.
- Los 3×10^9 pares de bases del DNA en seres humanos están organizados hacia el complemento haploide de 23 cromosomas. La secuencia exacta de estos 3 000 000 000 de nucleótidos de ne la singularidad de cada individuo.
- El DNA proporciona un molde para su propia replicación y, de esta manera, el mantenimiento del genotipo, y para la transcripción de los alrededor de 30 000 genes humanos hacia diversas moléculas de RNA.
- El RNA existe en varias estructuras monocatenarias diferentes, la mayor parte de las cuales participa de modo directo o indirecto en la síntesis de proteína o en su regulación. La disposición lineal de nucleótidos en el RNA consta de A, G, C y U, y el residuo de azúcar es ribosa.
- Las principales formas de RNA son el mensajero (mRNA), ribosómico (rRNA), de transferencia (tRNA), y RNA nucleares pequeños (snRNA; miRNA). Ciertas moléculas de RNA actúan como moléculas catalíticas (ribozimas).

REFERENCIAS

Chapman EJ, Carrington JC: Specialization and evolution of endogenous small RNA pathways. Nature Rev Genetics 2007;8:884.

Green R, Noller HF: Ribosomes and translation. Annu Rev Biochem 1997;66:689.

Guthrie C, Patterson B: Spliceosomal snRNAs. Ann Rev Genet 1988;22:387.

Hopper AK, Shaheen HH: A decade of surprises for tRNA nuclear cytoplasmic dynamics. Trends Cell Biol 2008;18:98.

Hunt T: *DNA Makes RNA Makes Protein*. Elsevier, 1983.

Moore M: From birth to death: the complex lives of eukaryotic mRNAs. Science 2005;309:1514.

Storz G, Altuvia S, Wasserman KM: An abundance of RNA regulators. Ann Rev Biochem 2005;74:199.

Wang G-S, Cooper TA: Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. Nature Rev Genetics 2007;8:749.

Watson JD, Crick FHC: Molecular structure of nucleic acids. Nature 1953;171:737.

Watson JD: *The Double Helix*. Atheneum, 1968.

Watson JD et al: *Molecular Biology of the Gene*, 5th ed. Benjamin-Cummings, 2000.

Zamore PD, Haley B: Ribo-gnome: the big world of small RNAs. Science 2005;309:1519.

C A P Í T U L O

35

Organización, replicación y reparación del DNA

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

La información genética en el DNA de un cromosoma puede transmitirse por medio de replicación precisa, o se puede intercambiar mediante diversos procesos, entre ellos entrecruzamiento, recombinación, transposición y conversión. Éstos proporcionan un medio para asegurar la adaptabilidad y diversidad para el organismo pero, cuando estos procesos tienen errores, también pueden dar por resultado enfermedad. Varios sistemas enzimáticos participan en la replicación, alteración y reparación del DNA. Las mutaciones se deben a un cambio de la secuencia de bases de DNA, y en ocasiones dependen de defectos de la replicación, el movimiento o la reparación del DNA, y ocurren con una frecuencia de alrededor de una en cada 10^6 divisiones celulares. A veces, las anormalidades en productos de gen (sea en el RNA, la función o la cantidad de proteína) son el resultado de mutaciones que suceden en DNA codificador o de región reguladora.

Una mutación en una célula germinal se transmite hacia la descendencia (la denominada transmisión vertical de enfermedad hereditaria). Diversos factores, entre ellos virus, sustancias químicas, luz ultravioleta y radiación ionizante, aumentan el índice de mutación. Las mutaciones suelen afectar células somáticas y, así, se transmiten hacia generaciones sucesivas de células, pero sólo dentro de un organismo (es decir, de modo horizontal). Cada vez es más claro que varias enfermedades —y tal vez casi todos los cánceres— se deben a los efectos combinados de la transmisión vertical de mutaciones, así como a la transmisión horizontal de mutaciones inducidas.

LA CROMATINA ES EL MATERIAL CROMOSÓMICO EN LOS NÚCLEOS DE CÉLULAS DE ORGANISMOS EUCARIÓTICOS

La cromatina consta de **moléculas de DNA** de doble cadena muy largas, y una masa casi igual de proteínas básicas más bien pequeñas llamadas **histonas**, así como una cantidad menor de **proteínas no histona** (la mayor parte de las cuales son ácidas y de mayor tamaño que las histonas), y una pequeña cantidad de **RNA**. Las proteínas no histona incluyen enzimas involucradas en la replicación y reparación del DNA, y las proteínas participantes en la síntesis, el procesamiento y el transporte hacia el citoplasma, del RNA. La hélice de DNA bicatenario en cada cromosoma tiene una longitud que es miles de veces el diámetro del núcleo de la célula. Un propósito de las moléculas que comprenden la cromatina, en especial las histonas, es condensar el DNA. Sin embargo, es importante notar que las histonas también tienen una participación fundamental en la regulación de gen (caps. 36, 38 y 42). En estudios de microscopia electrónica de cromatina se han demostrado partículas esféricas densas denominadas **nucleosomas**, que tienen alrededor de 10 nm de diámetro y están conectadas por medio de filamentos de DNA (fig. 35-1). Los nucleosomas están compuestos de DNA enrollado alrededor de un conjunto de moléculas de histona.

Las histonas son las proteínas más abundantes de cromatina

Las histonas son una familia pequeña de proteínas básicas estrechamente relacionadas. Las **histonas H1** son las que están menos estrechamente unidas a la cromatina (fig. 35-1) y, en consecuencia, se eliminan con facilidad con una solución salina, tras lo cual la cromatina se hace más soluble. La unidad organizacional de esta cromatina soluble es el nucleosoma. Los nucleosomas contienen cuatro tipos de histonas: **H2A**, **H2B**, **H3** y **H4** —las llamadas histonas centrales que forman el nucleosoma— cuya estructura se ha conservado mucho entre las especies. Esta conservación extrema indica que la función de las histonas es idéntica en todos los eucariotas, y que toda la molécula participa de manera bastante específica en esta función. Los dos tercios carboxilo terminal de las moléculas de histona son hidrofóbicos, mientras que sus tercios amino terminal son en particular ricos en aminoácidos básicos. **Estas cuatro histonas centrales están sujetas a por lo menos seis tipos de modificación covalente:** acetilación, metilación, fosforilación, ADP-ribosilación, monoubiquitilación y sumoilación. Estas modificaciones de histonas tienen importancia en la estructura y la función de la cromatina (cuadro 35-1).

Las histonas interactúan entre sí de modos muy específicos. **H3 y H4 forman un tetrámero** que contiene dos moléculas de cada una $(H3\text{-}H4)_2$, mientras que **H2A y H2B forman dímeros** (H2A-H2B). En condiciones fisiológicas, estos oligómeros de histona se asocian para formar el **octámero de histonas** de la composición $(H3\text{-}H4)_2$-$(H2A\text{-}H2B)_2$.

*Hasta donde es posible, la exposición en este capítulo y los capítulos 36, 37 y 38 se referirá a organismos mamíferos, que guran, por supuesto, entre los eucariotas superiores. En ocasiones será necesario hacer referencia a observaciones en organismos procarióticos, como por ejemplo bacterias y virus, pero en esos casos la información que se presenta puede extrapolarse a organismos mamíferos.

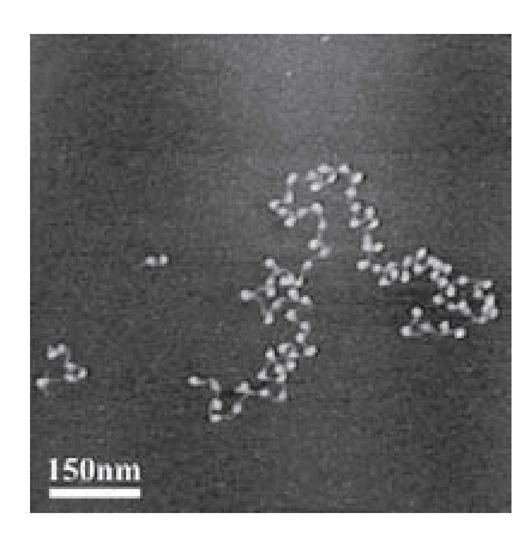


FIGURA 35-1 Microfotografía electrónica de nucleosomas (esféricos, de color blanco) fijos a cadenas de DNA (línea gris delgada); véase la figura 35-2. (Reproducida, con autorización, de Shao Z. Probing nanometer structures with atomic force microscopy. News Physiol Sci, 1999, Aug.;14:142-149. Cortesía del Professor Zhifeng Shao, University of Virginia.)

El nucleosoma contiene histona y DNA

Cuando el octámero de histonas se mezcla con DNA bicatenario purificado en condiciones iónicas apropiadas, se forma el mismo modelo de difracción de rayos X que el que se observa en cromatina recién aislada. Estudios de microscopia electrónica confirman la existencia de nucleosomas reconstituidos. Además, la reconstitución de nucleosomas a partir del DNA e histonas H2A, H2B, H3 y H4 es independiente del origen de organismo o celular de los diversos componentes. Ni la histona H1 ni las proteínas no histona se requieren para la reconstitución del centro del nucleosoma.

En el nucleosoma, el DNA está superenrollado en una hélice hacia la izquierda sobre la superficie del octámero de histonas en forma de disco (fig. 35-2). Casi todas las proteínas histona centrales interactúan con el DNA en el interior de la superhélice sin sobresalir, aun cuando las colas amino terminal de todas las histonas probablemente se extienden fuera de esta estructura y están disponibles para modificaciones covalentes reguladoras (cuadro 35-1).

El tetrámero $(H3\text{-}H4)_2$ en sí puede conferir propiedades parecidas a nucleosoma sobre el DNA y, de esta manera, tiene una función fundamental en la formación del nucleosoma. La adición de dos dímeros H2A-H2B estabiliza la partícula primaria y une firmemente dos medias vueltas adicionales de DNA previamente unidas sólo de modo laxo al $(H3\text{-}H4)_2$. De esta manera, 1.75 giros de superhélice de DNA están enrollados alrededor de la superficie del octámero de histonas, lo que protege 146 pares de bases de DNA y forma la partícula central del nucleosoma (fig. 35-2). En la cromatina, las partículas centrales están separadas por una región de DNA de alrededor de 30 pb denominada **"enlazador"**. La mayor parte del DNA está en una serie repetitiva de estas estructuras, lo que da el llamado aspecto en "cuentas sobre un hilo" en la microscopia electrónica (fig. 35-1).

El ensamble de nucleosomas está mediado por uno de varios factores de montaje de cromatina nucleares facilitados por chaperones de histona, un grupo de proteínas que muestran unión de alta afinidad a histona. Conforme el nucleosoma se monta, las histonas se liberan de los chaperones de histona. Los nucleosomas muestran preferencia por ciertas regiones sobre moléculas de DNA específicas, pero la base de esta distribución no al azar, denominada **ajuste de fase**, aún no se entiende por completo. El ajuste de fase probablemente se relaciona con la flexibilidad física relativa de ciertas secuencias de nucleótido que tienen la capacidad de acomodarse en las regiones de curvatura dentro de la superhélice, así como con la presencia de otros factores unidos a DNA que limitan los sitios de depósito de nucleosoma.

CUADRO 35-1 Posibles funciones de histonas modificadas

1. La acetilación de histonas H3 y H4 se relaciona con la activación o desactivación de la transcripción de gen.
2. La acetilación de histonas centrales muestra vínculo con el ensamble cromosómico durante la replicación de DNA.
3. La fosforilación de histona H1 se relaciona con la condensación de cromosomas durante el ciclo de replicación.
4. La ADP-ribosilación de histonas muestra vínculo con reparación de DNA.
5. La metilación de histonas se correlaciona con activación y represión de la transcripción génica.
6. La monoubiquitilación se relaciona con activación de gen, represión y silenciamiento de gen heterocromático.
7. La sumoilación de histonas (SUMO; modi cador vinculado con ubiquitina pequeño [*small ubiquitin-related modi er*]) se relaciona con represión de la transcripción.

ESTRUCTURAS DE ORDEN SUPERIOR MANTIENEN COMPACTADA LA CROMATINA

La microscopia electrónica de la cromatina revela dos órdenes de estructura superiores —la fibrilla de 10 nm y la fibrilla de cromatina

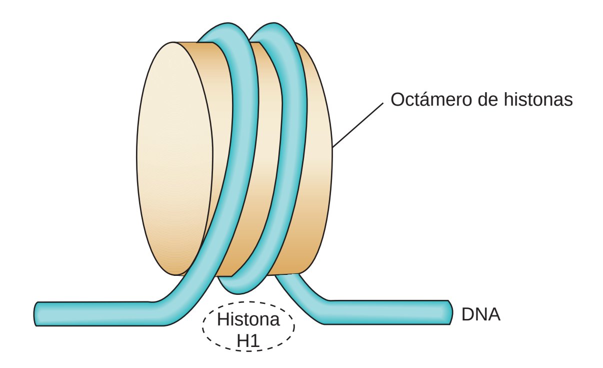


FIGURA 35-2 Modelo para la estructura del nucleosoma, en el cual el DNA está envuelto alrededor de la superficie de un cilindro proteínico plano que consta de dos de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 que forman el octámero de histonas. Los 146 pares de bases de DNA, que constan de 1.75 vueltas superhelicoidales, están en contacto con el octámero de histona. Esto protege al DNA contra digestión por una nucleasa. El óvalo punteado en la parte inferior de la figura indica la posición de la histona H1, cuando está presente.

de 30 nm— más allá que la del nucleosoma mismo. La estructura del nucleosoma parecida a disco tiene 10 nm de diámetro y 5 nm de altura. La **fibrilla de 10 nm** consta de nucleosomas dispuestos con sus bordes separados por una distancia pequeña (30 bp de DNA) con sus caras planas paralelas al eje de la fibrilla (fig. 35-3). La fibrilla de 10 nm probablemente está más superenrollada con 6 o 7 nucleosomas por cada vuelta, para formar la **fibrilla de cromatina de 30 nm** (fig. 35-3). Cada giro de la superhélice es relativamente plano y las caras de los nucleosomas de vueltas sucesivas serían casi paralelas entre sí. Las histonas H1 parecen estabilizar la fibra de 30 nm, pero no están claras su posición ni la del DNA espaciador de longitud variable. Es probable que los nucleosomas puedan formar diversas estructuras condensadas. Para formar un cromosoma mitótico, la fibra de 30 nm debe compactarse en longitud otras 100 veces (véase más adelante).

En los **cromosomas en interfase**, las fibrillas de cromatina parecen estar organizadas hacia **asas** o **dominios** de 30 000 a 100 000 bp anclados en andamiaje (o matriz de soporte) dentro del núcleo, la llamada **matriz nuclear**. Dentro de estos dominios, algunas secuencias de DNA pueden estar ubicadas de modo no al azar. Se ha

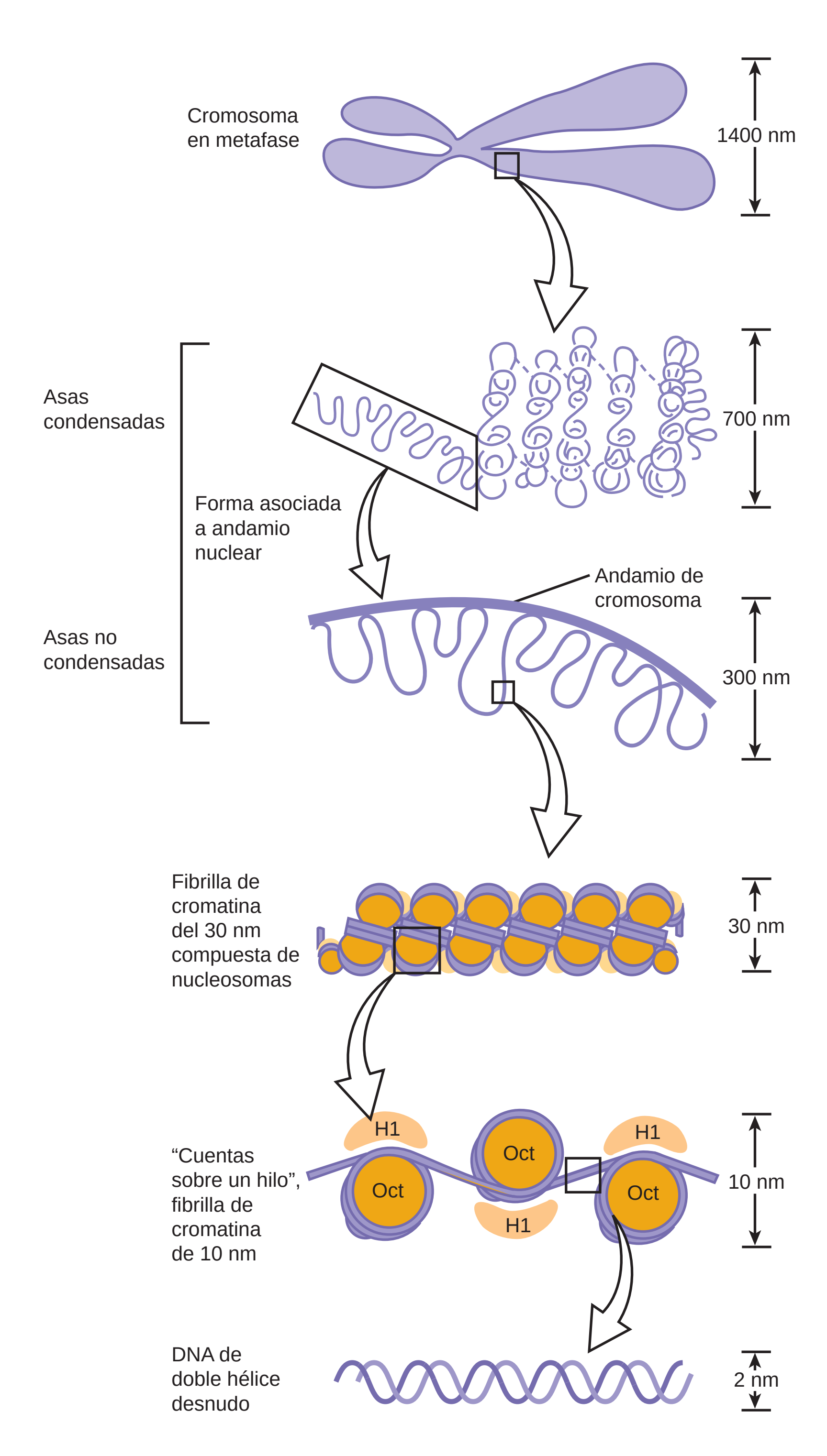


FIGURA 35-3 Se muestra la extensión de la aglomeración de DNA en cromosomas en metafase (arriba) a DNA dúplex desnudo (abajo). El DNA cromosómico está empaquetado y organizado en varios niveles como se muestra (cuadro 35-2). Cada fase de condensación o compactación y organización (de abajo a arriba) disminuye la accesibilidad general del DNA hasta un grado en que las secuencias de DNA en cromosomas en metafase son casi por completo inertes desde el punto de vista transcripcional. En total estos cinco niveles de compactación del DNA suscitan una disminución lineal de 10^4 veces de la longitud de un extremo a otro del DNA. La compactación y descompactación completas del DNA lineal en cromosomas ocurren en horas en el transcurso del ciclo celular replicativo normal (fig. 35-20).

sugerido que cada dominio de cromatina en asa corresponde a una o más funciones genéticas separadas, que contienen regiones tanto codificadoras como no codificadoras del gen o los genes cognados. Esta estructura nuclear probablemente es dinámica y tiene importantes efectos reguladores sobre la regulación de gen. Datos recientes sugieren que ciertos genes o regiones génicas son móviles dentro del núcleo y que se mueven hacia *loci* separados dentro del núcleo en el momento de la activación (caps. 36 y 38). Investigación adicional determinará si éste es un fenómeno general.

ALGUNAS REGIONES DE LA CROMATINA SON "ACTIVAS" Y OTRAS SON "INACTIVAS"

En general, cada célula de un organismo metazoario individual contiene la misma información genética. Así, las diferencias entre los tipos de célula dentro de un organismo deben explicarse por expresión diferencial de la información genética común. Se ha mostrado que la cromatina que contiene genes activos (esto es, cromatina activa desde el punto de vista transcripcional, o en potencia activa desde dicho punto de vista) difiere en varios aspectos de la cromatina de regiones inactivas. La estructura de nucleosoma de la cromatina activa parece estar alterada, a veces de manera bastante extensa, en regiones muy activas. El DNA en cromatina activa contiene regiones grandes (de alrededor de 100 000 bases de largo) que son relativamente más **sensibles a la digestión por una nucleasa** como la DNasa I; esta última hace cortes en una de las cadenas en casi cualquier segmento del DNA (es decir, especificidad baja de secuencia). Digerirá DNA que no está protegido, o unido a proteína, hacia los desoxinucleótidos que lo componen. La sensibilidad a DNasa I de regiones de cromatina activas refleja sólo un potencial para transcripción más que transcripción en sí y en varios sistemas puede correlacionarse con una falta relativa de la 5-metildesoxicitidina (meC) en el DNA y modificaciones covalentes de la histona particular (fosforilación, acetilación, etc.; cuadro 35-1).

Dentro de las regiones grandes de cromatina activa hay tramos más cortos, de 100 a 300 nucleótidos, que muestran una sensibilidad aun mayor (otras 10 veces) a la de DNasa I. Estos **sitios hipersensibles** probablemente se producen por una conformación estructural que favorece el acceso de la nucleasa al DNA; dichas regiones a menudo están localizadas justo torrente arriba del gen activo, y son la ubicación de estructura nucleosómica interrumpida por unión de proteínas factor de transcripción reguladoras no histona (caps. 36 y 38). En muchos casos, parece ser que si un gen tiene la capacidad de ser transcrito, muy a menudo tiene uno o varios sitios hipersensibles a DNasa en la cromatina justo torrente arriba. Como se mencionó, las proteínas reguladoras no histona involucradas en el control de la transcripción y las comprendidas en mantener acceso a la cadena molde conducen a la formación de sitios hipersensibles. Esos sitios a menudo proporcionan el primer indicio respecto a la presencia y ubicación de un elemento de control de transcripción.

En contraste, la cromatina inactiva en el aspecto transcripcional está densamente aglomerada durante la interfaz, como se observa mediante estudios con microscopia electrónica, y se denomina **heterocromatina**; la cromatina activa desde el punto de vista transcripcional se tiñe menos densamente, y se llama **eucromatina**. En general, la eucromatina se replica antes que la heterocromatina en el ciclo de células de mamífero (véase más adelante). La cromatina en estas regiones de inactividad suele tener contenido alto de meC, y las histonas allí contienen relativamente menos modificaciones covalentes.

Hay dos tipos de heterocromatina: constitutiva y facultativa. La **heterocromatina constitutiva** siempre está condensada y, de este modo, es en esencia inactiva. Se encuentra en las regiones cercanas al centrómero cromosómico y en terminaciones cromosómicas (telómeros). La **heterocromatina facultativa** en ocasiones está condensada, pero algunas veces se transcribe de manera activa y, así, está no condensada y aparece como eucromatina. De los dos miembros del par de cromosomas X en hembras de mamífero, un cromosoma X es casi por completo inactivo en el aspecto transcripcional, y es heterocromático. Empero, el cromosoma X heterocromático se descondensa en el transcurso de la gametogénesis y se torna activo desde el punto de vista transcripcional durante la embriogénesis temprana; de este modo, es heterocromatina facultativa.

Ciertas células de insectos, p. ej., *Chironomus* y *Drosophila*, contienen cromosomas gigantes que se han replicado durante múltiples ciclos sin separación de cromátides hijas. Estas copias de DNA se alinean lado a lado en el registro exacto, y producen un cromosoma con bandas que contiene regiones de cromatina condensada y bandas más claras de cromatina más extendida. Las regiones activas en el aspecto transcripcional de estos **cromosomas politénicos** se descondensan en especial hacia **"abultamientos"** ("*puffs*") que puede mostrarse que contienen las enzimas de las cuales depende la transcripción, y que son los sitios de síntesis de RNA (fig. 35-4). Al usar sondas de hibridación marcadas con fluorescencia, muy sensibles, es posible "mapear" secuencias de gen específicas, o "pintarlas", dentro de los núcleos de células de ser humano, incluso sin formación del cromosoma politeno, usando técnicas de FISH (hibridación *in situ* fluorescente; cap. 39).

EL DNA ESTÁ ORGANIZADO EN CROMOSOMAS

En el transcurso de la metafase, los **cromosomas** de mamífero poseen una simetría doble, con las **cromátides hermanas** duplicadas idénticas conectadas en un **centrómero**, cuya posición relativa es característica para un cromosoma dado (fig. 35-5). El centrómero es una región rica en adenina-timina (A-T) que contiene secuencias de DNA repetidas que varían en tamaño desde 10^2 (levadura de cerveza) hasta 10^6 (mamíferos) pares de bases. Los centrómeros de metazoario están unidos por nucleosomas que contienen la proteína variante histona H3 CENP-A y otras proteínas de unión a centrómero específicas. Este complejo, denominado el **cinetócoro**, proporciona la fijación para el huso mitótico. De esta manera, es una estructura esencial para la segregación cromosómica durante la mitosis.

Los extremos de cada cromosoma contienen estructuras llamadas **telómeros**, que constan de repeticiones cortas ricas en TG. En seres humanos, los telómeros tienen un número variable de repeticiones de la secuencia 5′-TTAGGG-3′, que puede extenderse por varias kilobases. La **telomerasa**, un complejo que contiene RNA de múltiples subunidades vinculado con DNA polimerasas dependientes de RNA virales (transcriptasas inversas), es la enzima que se encarga de la síntesis de telómero y, de este modo, de mantener la longitud del mismo. Dado que el acortamiento de telómero se ha

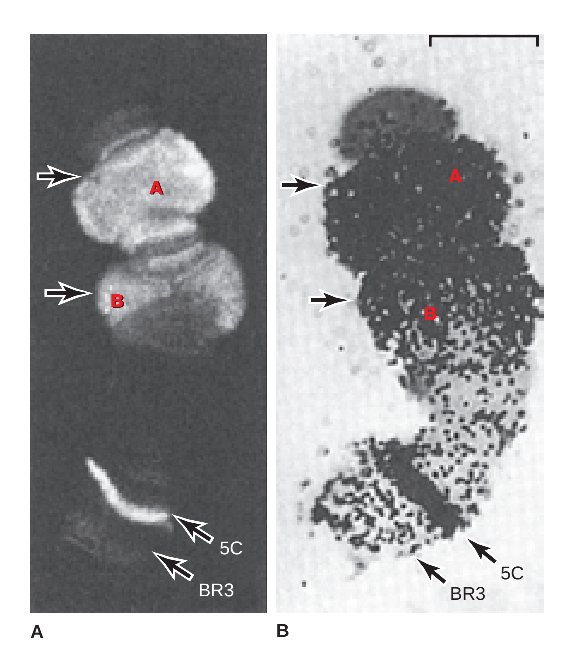


FIGURA 35-4 Ilustración de la estrecha correlación entre la presencia de RNA polimerasa II (cuadro 36-2) y la síntesis de RNA mensajero. Varios genes, marcados como A, B (arriba) y 5C, no así los genes en el locus (la banda) BR3 (5C, BR3, abajo) se activan cuando larvas de *Chironomus tentans* quedan sujetas a choque por calor (39°C durante 30 min). **(A)** Distribución de la RNA polimerasa II en el cromosoma IV aislado de la glándula salival **(en las flechas)**. La enzima se detectó por medio de inmunofluorescencia usando un anticuerpo dirigido contra la polimerasa. El 5C y BR3 son bandas específicas del cromosoma IV, y las flechas indican los abultamientos. **(B)** Autorradiograma de un cromosoma IV que se incubó en ^{3}H-uridina para marcar el RNA. Note la correspondencia de la inmunofluorescencia y la presencia de RNA radiactivo (puntos negros). Barra = 7 μm. (Reproducida, con autorización, de Sass H: RNA polymerase B in polytene chromosomes. Cell 1982;28:274. Copyright ©1982. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

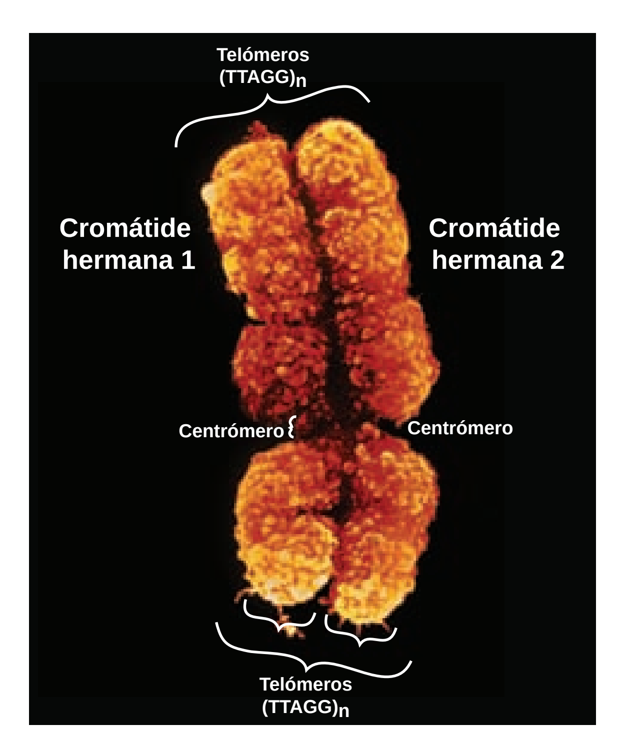


FIGURA 35-5 Las dos cromátides hermanas del cromosoma 12 de ser humano. La localización de la región centromérica rica en A+T que conecta las cromátides hermanas está indicada, al igual que dos de los cuatro telómeros que residen en los extremos mismos de las cromátides que están fijas una a la otra en el centrómero. (Cortesía de Biophoto Associates/Photo Researchers, Inc.)

relacionado tanto con transformación maligna como con envejecimiento, la telomerasa se ha convertido en un blanco atractivo para la quimioterapia de cáncer y el desarrollo de fármacos. Cada cromátide hermana contiene una molécula de DNA bicatenario. Durante la interfase, la condensación de la molécula de DNA es menos densa que en el cromosoma condensado durante la metafase. Los cromosomas en metafase son casi por completo inactivos desde el punto de vista transcripcional.

El genoma haploide de seres humanos consta de alrededor de 3×10^9 bp, y alrededor de 1.7×10^7 nucleosomas. Así, cada una de las 23 cromátides en el genoma haploide humano contendría en promedio 1.3×10^8 nucleótidos en una molécula de DNA bicatenario. Por ende, la longitud de cada molécula de DNA debe comprimirse alrededor de 8 000 veces para generar la estructura de un cromosoma en metafase condensado. En cromosomas en metafase, las fibras de cromatina de 30 nm también están plegadas hacia una serie de **dominios en asa**, cuyas porciones proximales están fijas a un andamiaje de matriz nuclear proteináceo no histona dentro del núcleo (fig. 35-3). El cuadro 35-2 resume las proporciones de condensación de cada uno de los órdenes de estructura del DNA.

CUADRO 35-2 **Las proporciones de condensación de cada uno de los órdenes de estructura de DNA**

Forma de cromatina	Proporción de aglomeración
DNA de doble hélice desnudo	~1.0
Fibrilla de 10 nm de nucleosomas	7 a 10
Fibrilla de cromatina de 30 nm de nucleosomas superhelicoidales	40 a 60
Asas de cromosoma condensados en metafase	8 000

El empaquetamiento de nucleoproteínas dentro de cromátides no es al azar, según queda de manifiesto por los modelos típicos observados cuando los cromosomas se tiñen con colorantes específicos, como tinción de quinacrina o Giemsa (fig. 35-6).

De un individuo a otro dentro de una especie única, el modelo de tinción (bandeo) de la totalidad del cromosoma es muy reproducible; con todo, difiere de manera significativa entre las especies, incluso las que están muy relacionadas. De este modo, el empaquetamiento de nucleoproteínas en cromosomas de eucariotas superiores debe depender de alguna manera de características específicas de las moléculas de DNA para la especie.

Una combinación de técnicas de coloración especializada y microscopia de alta resolución ha permitido a los citogenetistas

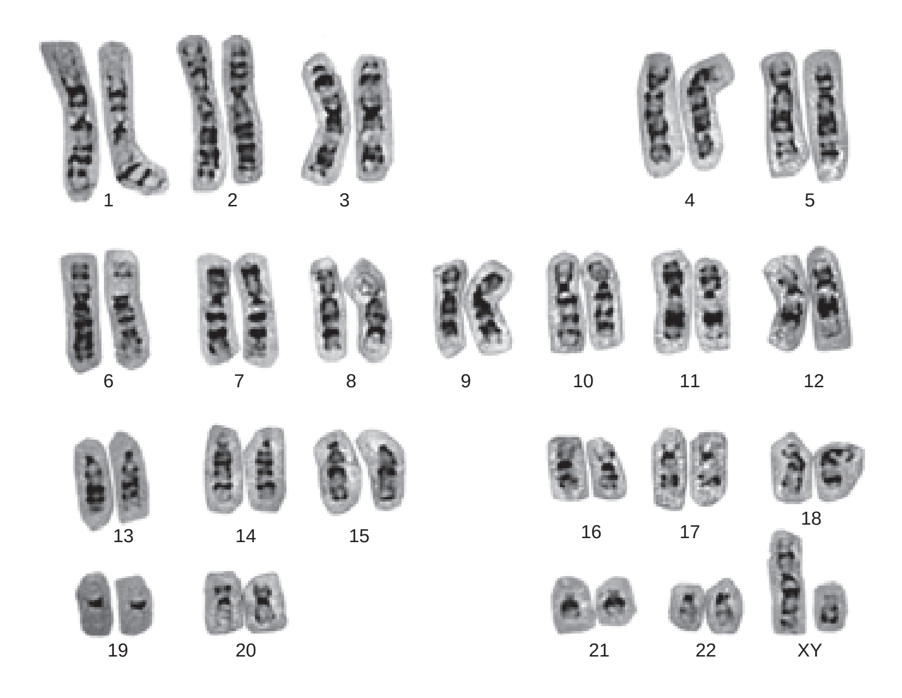


FIGURA 35-6 Un cariotipo de ser humano (de un hombre con una constitución 46,XY normal), en el cual los cromosomas en metafase se han teñido mediante el método de Giemsa y alineado de acuerdo con la Paris Convention. (Cortesía de H Lawce y F Conte.)

"mapear" de modo bastante preciso miles de genes a regiones específicas de cromosomas de ratón y ser humano. Con la elucidación reciente de las secuencias del genoma de ser humano y de ratón (entre otras), ha quedado claro que muchos de estos métodos de mapeo visual son bastante exactos.

Las regiones codificadoras a menudo están interrumpidas por secuencias intermedias

Las **regiones codificadoras de proteína del DNA**, cuyas transcripciones aparecen en el citoplasma como moléculas de mRNA únicas, por lo general están **interrumpidas en el genoma eucariótico por secuencias interpuestas grandes de DNA que no codifica para proteína**. Por consiguiente, las **transcripciones primarias del DNA**, los **precursores de mRNA** (al inicio denominados **hnRNA** porque esta especie de RNA fue bastante heterogénea en tamaño [longitud] y en su mayor parte estaba restringida al núcleo), contienen secuencias de RNA interpuestas no codificadoras que deben eliminarse en un proceso que también junta los segmentos codificadores apropiados para formar el mRNA maduro. Casi todas las secuencias codificadoras para un mRNA único están interrumpidas en el genoma (y, de esta manera, en la transcripción primaria) por al menos una —y en algunos casos hasta 50— secuencia interpuesta no codificadora **(intrones).** Casi siempre, los intrones son mucho más largos que las regiones codificadoras **(exones).** El procesamiento de la transcripción primaria, que comprende eliminación precisa de intrones y empalme de los exones adyacentes, se describe con detalle en el capítulo 36.

La función de las secuencias intermedias, o intrones, no está por completo clara; tal vez sirvan para separar dominios funcionales (exones) de información codificadora en una forma que permite que el reordenamiento genético por medio de recombinación suceda con mayor rapidez que si todas las regiones codificadoras para una función genética dada fueran contiguas. Ese índice incrementado de reordenamiento genético de dominios funcionales podría permitir una evolución más rápida de la función biológica. En la figura 35-7 se ilustran las vínculos entre DNA cromosómico, agrupaciones de gen en el cromosoma, la estructura de exón-intrón de genes y el producto mRNA final.

GRAN PARTE DEL GENOMA DE MAMÍFERO PARECE REDUNDANTE Y GRAN PARTE NO SE TRANSCRIBE MUCHO

El genoma haploide de cada célula de ser humano consta de 3×10^9 pares de bases de DNA subdivididos en 23 cromosomas. El genoma haploide completo contiene suficiente DNA para codificar para cerca de 1.5 millones de genes de tamaño promedio. Aun así, estudios de índices de mutación y de las complejidades de los genomas de organismos superiores sugieren fuertemente que los seres humanos tienen mucho menos de 100 000 proteínas codificadas por ~1% del genoma humano que está compuesto de DNA exónico. De hecho, estimados actuales sugieren que hay ≤ 25 000 genes codificadores de proteína en los seres humanos. Esto implica que casi todo el DNA es no codificador de proteína; es decir, su información nunca se traduce hacia una secuencia de aminoácidos de una molécula de proteína. Es cierto que algunas de las secuencias de DNA excesivas sirven para regular la expresión de genes en el transcurso del desarrollo, la diferenciación y la adaptación al ambiente, ya sea al servir como sitios de unión para proteínas reguladoras o al codificar para RNA reguladores (esto es, miRNA). Está claro que parte del exceso constituye las secuencias intermedias o intrones (24% del genoma humano total) que dividen las regiones codificadoras de genes, y otra parte del exceso parece estar compuesta de muchas familias de secuencias repetidas cuyas funciones todavía no se han definido con claridad. En el capítulo 39 se resumen las características sobresalientes del genoma humano. Es interesante que el *ENCODE Project*

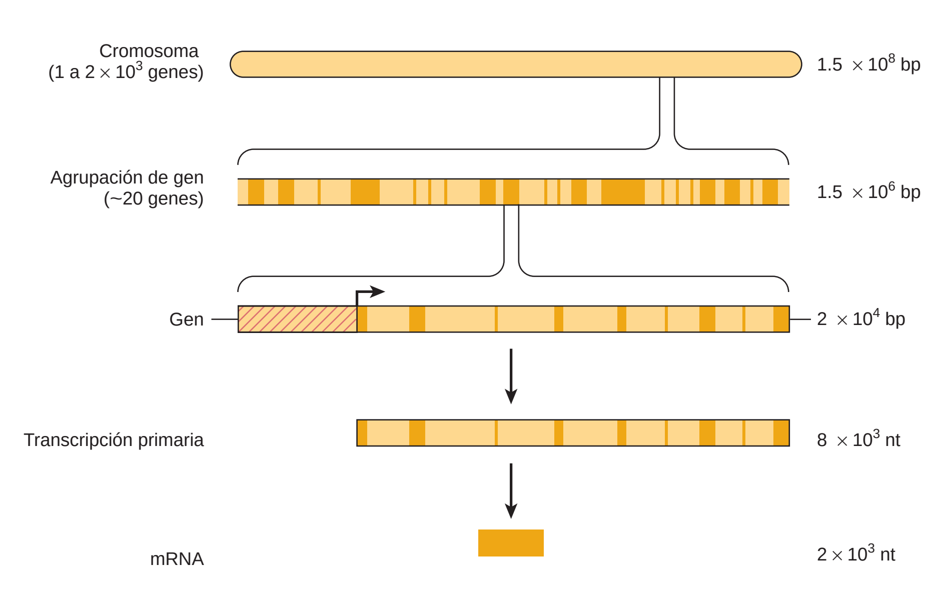


FIGURA 35-7 Las relaciones entre DNA y mRNA cromosómicos. La totalidad de DNA haploide humano de 3×10^9 pares de bases (bp) está distribuido entre 23 cromosomas. Los genes están agrupados en estos cromosomas. Un gen promedio tiene 2×10^4 bp de longitud, incluso la región reguladora (área con trama), que por lo general está localizada en el extremo 5' del gen. La región reguladora se muestra aquí como adyacente al sitio de inicio de transcripción (flecha). Casi todos los genes eucarióticos tienen exones e intrones que alternan. En este ejemplo, hay nueve exones (áreas oscuras) y ocho intrones (áreas claras). Los intrones se eliminan de la transcripción primaria por medio de las reacciones de procesamiento, y los exones se ligan juntos en secuencia para formar en el mRNA maduro. (nt, nucleótidos.)

Consortium (cap. 39) ha mostrado que para el 1% del genoma estudiado, la mayor parte de la secuencia genómica de hecho se transcribió a un índice bajo. Investigación adicional elucidará la función o funciones de esos transcritos.

El DNA en un genoma eucariótico puede ser dividido en diferentes "clases de secuencia", a saber, DNA de secuencia única, o DNA no repetitivo y DNA de secuencia repetitiva. En el genoma haploide, el DNA de secuencia única por lo regular incluye los genes de copia única que codifican para proteínas. El DNA repetitivo en el genoma haploide comprende secuencias cuyo número de copias varía desde 2 hasta 10^7 por célula.

Más de la mitad del DNA en los organismos eucarióticos está en secuencias únicas o no repetitivas

Tal estimación (y la distribución del DNA de secuencias repetitivas) se basa en diversas técnicas de hibridación de DNA-RNA y, en fecha más reciente, en la secuenciación directa de DNA. Se usan técnicas similares para estimar el número de genes activos en una población de DNA de secuencia única. En la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota inferior), alrededor de dos tercios de sus 6 200 genes se expresan, pero sólo ~1/5 se necesita para la viabilidad en condiciones de crecimiento en el laboratorio. En los tejidos típicos en un eucariota superior (p. ej., hígado y riñón de mamífero), entre 10 000 y 15 000 genes se expresan de modo activo. Diferentes combinaciones de genes se expresan en cada tejido, por supuesto, y cómo se logra esto es una de las principales preguntas sin respuesta en biología.

En el DNA de seres humanos, al menos 30% del genoma consta de secuencias repetitivas

El DNA de secuencia repetitiva se clasifica en términos generales como moderadamente repetitivo o como muy repetitivo. Las secuencias muy repetitivas constan de tramos de 5 a 500 pares de bases repetidos muchas veces en tándem. Estas secuencias suelen estar agrupadas en centrómeros y telómeros del cromosoma, y algunas están presentes en alrededor de 1 a 10 millones de copias por cada genoma haploide. Casi todas estas secuencias son inactivas en el aspecto transcripcional, y algunas tienen una función estructural en el cromosoma (fig. 35-5; véase cap. 39).

Las secuencias moderadamente repetitivas, que se definen como estar presentes en números de menos de 10^6 copias por cada genoma haploide, no están agrupadas sino que están entremezcladas con secuencias únicas. En muchos casos, estas repeticiones entremezcladas largas son transcritas por la RNA polimerasa II, y contienen casquetes indistinguibles de las que se encuentran en el mRNA.

Según su longitud, las secuencias moderadamente repetitivas se clasifican como **secuencias repetidas entremezcladas largas** (**LINE**, del inglés, *long interspersed repeat sequences*) o **secuencias repetidas entremezcladas cortas** (**SINE** del inglés, *short interspersed repeat sequences*). Ambos tipos parecen ser **retrotransposones**, es decir, **surgieron** por movimiento desde una ubicación hacia otra **(transposición)** a través de un RNA intermediario mediante la acción de la transcriptasa inversa que transcribe un molde de RNA hacia DNA. Los genomas de mamífero contienen 20 000 a 50 000 copias de las LINE de 6 a 7 kpb, las cuales representan familias de elementos repetidos específicas para especie. Las SINE son más cortas (70 a 300 bp) y llegan hasta más de 100 000 copias por cada genoma. De las SINE en el genoma humano, una familia, la **familia Alu**, está presente en alrededor de 500 000 copias por cada genoma haploide y explica 5 a 6% del genoma humano. Los miembros de la familia Alu humana y sus análogos estrechamente relacionados en otros animales se transcriben como componentes integrales de precursores de mRNA o moléculas de RNA separadas, incluso los bien estudiados RNA 4.5S y RNA 7S. Estos miembros de la familia particulares están muy conservados dentro de una especie, de igual manera entre especies de mamíferos. Los componentes de las repeticiones entremezcladas cortas, incluso los miembros de la familia Alu, pueden ser elementos móviles, capaces de saltar hacia adentro y hacia afuera de diversos sitios dentro del genoma (véase más adelante). Estos eventos de transposición llegan a tener resultados desastrosos, como se ejemplifica por la inserción de secuencias Alu hacia un gen que, cuando queda así mutado, origina neurofibromatosis.

Secuencias repetidas de microsatélite

Una categoría de secuencias repetidas existe como disposiciones en tándem tanto dispersas como agrupadas. Las secuencias constan de 2 a 6 bp repetidas hasta 50 veces. Estas **secuencias de microsatélite** se encuentran con mayor frecuencia como repeticiones de dinucleótido de AC en una cadena, y TG en la cadena opuesta, pero se encuentran varias otras formas, entre ellas CG, AT y CA. Las secuencias repetidas AC ocurren en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma. En cualquier locus, el número de estas repeticiones puede variar en los dos cromosomas, lo que proporciona heterocigosidad del número de copias de un número de microsatélite particular en un individuo. Se trata de un rasgo hereditario, y debido a su número y a la facilidad para detectarlas usando la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)** (cap. 39), esas repeticiones son útiles para construir mapas de enlace genético. Casi todos los genes muestran vínculo con uno o más marcadores microsatélite, de manera que es posible evaluar la posición relativa de genes en cromosomas, al igual que la relación de un gen con una enfermedad. Usando PCR, un gran número de miembros de la familia se puede investigar con rapidez para un cierto **polimorfismo de microsatélite**. La asociación de un polimorfismo específico con un gen en miembros de una familia afectados —y la ausencia de este vínculo en miembros no afectados— puede ser el primer indicio en cuanto a la base genética de una enfermedad.

Las secuencias de trinucleótido que aumentan de número (inestabilidad de microsatélite) pueden causar enfermedad. La secuencia de repetición $p(CGG)_n$ inestable se relaciona con el síndrome de X frágil. Otras repeticiones de trinucleótido que pasan por mutación dinámica (por lo general un incremento) muestran vínculo con corea de Huntington (CAG), distrofia miotónica (CTG), atrofia muscular espinobulbar (CAG) y enfermedad de Kennedy (CAG).

UNO POR CIENTO DEL DNA CELULAR ESTÁ EN MITOCONDRIAS

Casi todos los péptidos en mitocondrias (alrededor de 54 de 67) están codificados por genes nucleares. El resto está codificado por genes que se encuentran en DNA mitocondrial (mt). En el ser humano, las mitocondrias contienen 2 a 10 copias de una pequeña molécula de DNA bicatenario circular que constituye alrededor de 1% del DNA celular total. Este mtDNA codifica para RNA ribosómico y de transferencia específicos para mt, y para 13 proteínas que desempeñan funciones clave en la cadena respiratoria (cap. 13). La figura 35-8 muestra el mapa estructural linearizado de los genes mitocondriales de ser humano. El cuadro 35-3 lista algunas de las características del mtDNA.

Una característica importante del mtDNA mitocondrial del ser humano es que —puesto que el huevo contribuye con todas las mitocondrias durante la formación del cigoto— se transmite por herencia no mendeliana materna. De este modo, en enfermedades que se producen por mutaciones del mtDNA, una madre afectada en teoría transmitiría la enfermedad a todos sus hijos, pero sólo sus hijas transmitirían el rasgo. Como quiera que sea, en algunos casos, las deleciones en el mtDNA suceden durante la oogénesis y, de esta manera, no se heredan desde la madre; de manera reciente ha quedado demostrado que varias enfermedades se deben a mutaciones del mtDNA, entre ellas están diversas miopatías, trastornos neurológicos y algunos casos de diabetes mellitus.

EL MATERIAL GENÉTICO SE PUEDE ALTERAR Y REORDENAR

Una alteración de la secuencia de bases púricas y pirimídicas en un gen debido a un cambio —una eliminación o una inserción— de una o más bases puede suscitar un producto de gen alterado. Esa alteración del material genético produce una **mutación** cuyas consecuencias se comentan con detalle en el capítulo 37.

La recombinación cromosómica es un modo de reordenar el material genético

La información genética puede intercambiarse entre cromosomas similares u homólogos. El intercambio, o evento de **recombinación**,

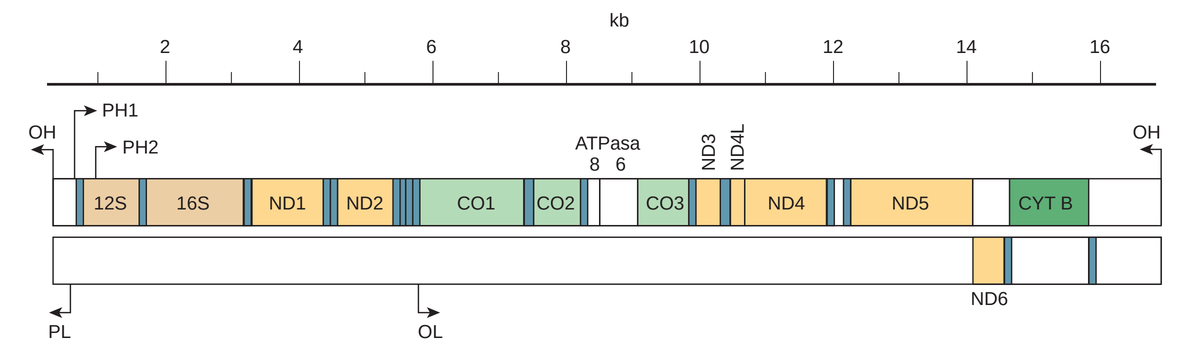


FIGURA 35-8 Mapas de genes mitocondriales de ser humano. Los mapas representan las cadenas pesada (cadena superior) y ligera (mapa inferior) de DNA mitocondrial (mt) proyectado en forma lineal, que muestra los genes para las subunidades de NADH-coenzima Q oxidorreductasa (ND1 a ND6), citocromo *c* oxidasa (CO1 a CO3), citocromo *b* (CYT B) y ATP sintasa (ATPasa 8 y 6) y para los mt rRNAs ribosómicos 12S y 16S. Los RNA de transferencia están denotados mediante cuadros de color azul pequeños. El origen de la replicación de cadena pesada (OH) y cadena ligera (OL) y los promotores para el inicio de transcripción de cadena pesada (PH1 y PH2) y cadena ligera (PL) se indica por medio de flechas. (Reproducida, con autorización, de Moraes CT *et al*.: Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. N Engl J Med 1989;320:1293. Copyright ©1989. Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados.)

CUADRO 35-3 Algunas características importantes de la estructura y función del DNA mitocondrial de humano

• Es circular, bicatenario, y está compuesto de cadenas pesadas (H) y ligeras (L)
• Contiene 16 569 bp
• Codifica para 13 subunidades proteínicas de la cadena respiratoria (de un total de alrededor de 67)
Siete subunidades de NADH deshidrogenasa (complejo I)
Citocromo *b* del complejo III
Tres subunidades de citocromo oxidasa (complejo IV)
Dos subunidades de ATP sintasa
• Codifica para RNA ribosómicos grande (16S) y pequeño (12S)
• Codifica para 22 moléculas de tRNA mt
• El código genético difiere un poco del código estándar
UGA (codón de detención estándar) se lee como Trp
AGA y AGG (codones estándar para Arg) se leen como codones de detención
• Contiene muy pocas secuencias no traducidas
• Índice de mutación alto (5 a 10 veces el del DNA nuclear)
• Las comparaciones de secuencias de mtDNA proporcionan evidencia acerca de los orígenes evolutivos de primates y otras especies

Fuente: Adaptado de Harding AE: Neurological disease and mitochondrial genes. Trends Neurol Sci 1991;14:132. Copyright ©1991. Reimpreso con autorización de Elsevier.

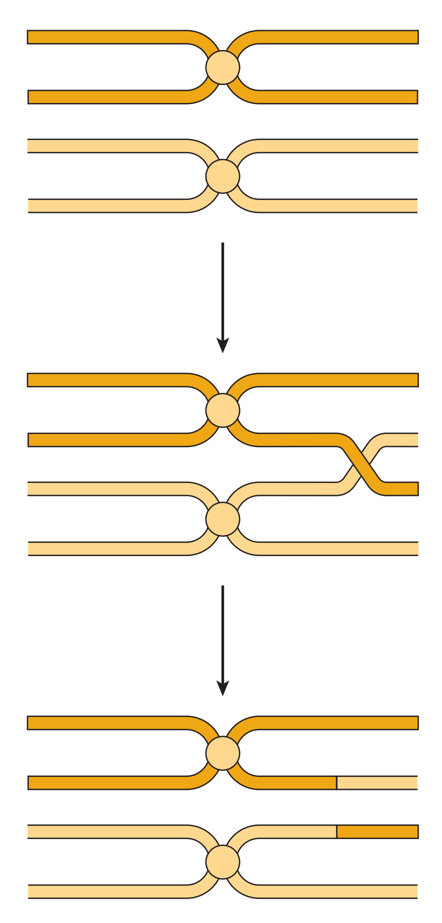


FIGURA 35-9 El proceso de entrecruzamiento entre cromosomas en metafase homólogos para generar cromosomas recombinantes. Véase también la figura 35-12.

se produce principalmente en el transcurso de la meiosis en células de mamífero, y requiere alineamiento de cromosomas en metafase homólogos, un alineamiento que casi siempre sucede con gran exactitud. Ocurre un proceso de entrecruzamiento (fig. 35-9). Esto generalmente ocasiona un intercambio igual o recíproco de información genética entre cromosomas homólogos. Si los cromosomas homólogos poseen diferentes alelos de los mismos genes, el entrecruzamiento llega a producir diferencias de enlace genético notables y hereditarias. En el raro caso en el cual el alineamiento de cromosomas homólogos es impreciso, el evento de entrecruzamiento o recombinación puede traducirse en un intercambio desigual de información. Un cromosoma quizá reciba menos material genético y, así, una deleción, mientras que el otro miembro del par de cromosomas recibe más material genético y, de esta manera, una inserción o duplicación (fig. 35-9). El entrecruzamiento desigual ocurre en seres humanos, según se demuestra por la existencia de hemoglobinas designadas Lepore y anti-Lepore (fig. 35-10). Mientras más separadas están dos secuencias en un cromosoma individual, mayor es la probabilidad de un evento de recombinación por entrecruzamiento. Tal es la base de los métodos de mapeo genético. El **entrecruzamiento desigual** afecta disposiciones en tándem de DNA repetidos independientemente de si son genes que codifican para globina relacionados (fig. 35-10) o DNA repetitivo más abundante. El entrecruzamiento desigual por deslizamiento en la formación de pares puede dar por resultado expansión o contracción del número de copias de la familia repetida, y contribuir a la expansión y fijación de miembros variantes en toda la disposición de repetición.

Ocurre integración cromosómica con algunos virus

Algunos virus bacterianos (bacteriófagos) tienen la capacidad de recombinarse con el DNA de un huésped bacteriano de tal modo que la información genética del bacteriófago se incorpora de una manera lineal hacia la del huésped. Esta integración, que es una forma de recombinación, sucede por medio del mecanismo que se ilustra en la figura 35-11. El esqueleto del genoma de bacteriófago circular se rompe, al igual que el de la molécula de DNA del huésped; los extremos apropiados se vuelven a sellar con la polaridad apropiada. El DNA del bacteriófago se endereza ("lineariza") de modo figurativo, a medida que se integra en la molécula de DNA bacteriano, a menudo también un círculo cerrado. El sitio en el cual el genoma del bacteriófago se integra o se recombina con el genoma bacteriano se elige mediante uno de dos mecanismos. Si el bacteriófago contiene una secuencia de DNA **homóloga** a una secuencia en la molécula de DNA huésped, puede producirse un evento de recombinación análogo al que ocurre entre cromosomas homólogos. De cualquier manera, algunos bacteriófagos sintetizan proteínas que unen sitios específicos en cromosomas bacterianos a un sitio **no homólogo** característico de la molécula de DNA del cromosoma del bacteriófago. La integración sucede en el sitio y se dice que es **"específica de sitio"**.

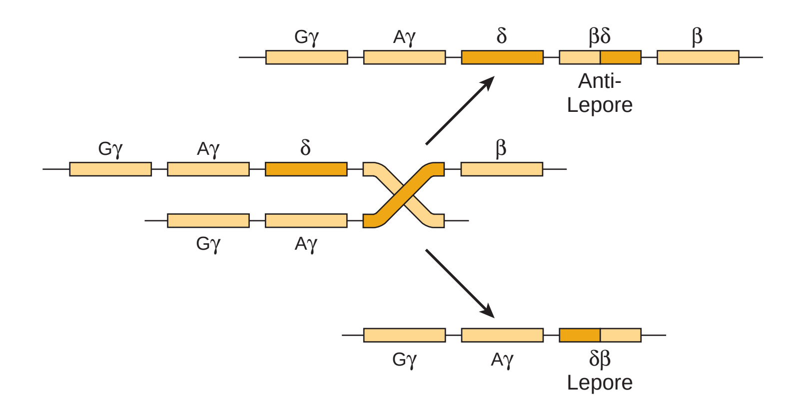


FIGURA 35-10 El proceso de entrecruzamiento desigual en la región del genoma de mamífero que alberga los genes estructurales que codifican para hemoglobinas y la generación de los productos recombinantes desiguales hemoglobina delta-beta Lepore y beta-delta anti-Lepore. Los ejemplos dados muestran las ubicaciones de las regiones de entrecruzamiento entre residuos aminoácido. (Redibujada y reproducida, con autorización, de Clegg JB, Weatherall DJ: β^0 Thalassemia: Time for a reappraisal? Lancet 1974;2:133. Copyright ©1974. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

Muchos virus de animales, en especial los virus oncogénicos —sea de modo directo o, en el caso de virus RNA como el VIH que origina el SIDA, sus transcripciones de DNA generadas por medio de la acción de la **DNA polimerasa dependiente de RNA** viral, o **transcriptasa inversa**— pueden integrarse hacia cromosomas de la célula de mamífero. La integración del DNA del virus de animal hacia el genoma del animal por lo general no es "específica de sitio" sino que despliega preferencias por sitio.

La transposición puede producir genes procesados

En células eucarióticas, elementos de DNA pequeños que claramente no son virus tienen la capacidad de transponerse ellos mismos hacia adentro y hacia afuera del genoma del huésped de maneras que afectan la función de secuencias de DNA vecinas. Estos elementos móviles, a veces llamados **"DNA saltador"**, o genes saltadores, pueden portar regiones flanqueantes de DNA y, por tanto, afectar de manera profunda la evolución. Como se mencionó, la familia Alu de secuencias de DNA moderadamente repetidas tiene características estructurales similares a los términos de retrovirus, lo que explicaría la capacidad de estos últimos para entrar y salir del genoma de mamífero.

El descubrimiento de **"genes procesados"** para moléculas de inmunoglobulina, moléculas de α-globulina, y varias otras, ha proporcionado evidencia directa de la transposición de otros elementos de DNA pequeños hacia el genoma humano. Dichos genes procesados constan de secuencias de DNA idénticas o casi idénticas a las del RNA mensajero para el producto de gen apropiado. Así que la región 5′-no traducida, la región codificadora sin representación de intrón, y la cola 3′ poli(A) están presentes de modo contiguo. Este ordenamiento de secuencia de DNA particular debe haberse producido por la transcripción inversa de una molécula RNA mensajero procesada de modo apropiado, de la cual las regiones intrón se habían eliminado y a la cual la cola poli(A) se había añadido. El único mecanismo reconocido que esta transcripción inversa podría haber usado para integrarse en el genoma habría sido un evento de transposición. De hecho, estos "genes procesados" tienen repeticiones terminales cortas en cada extremo, al igual que las secuencias transpuestas conocidas en organismos inferiores. En ausencia de su transcripción y, de esta manera, de selección genética para función, muchos de los genes procesados se han alterado al azar mediante evolución, de modo que ahora contienen codones sin sentido que eliminan su capacidad para codificar para una proteína funcional intacta (cap. 37). Así, se denominan **"seudogenes"**.

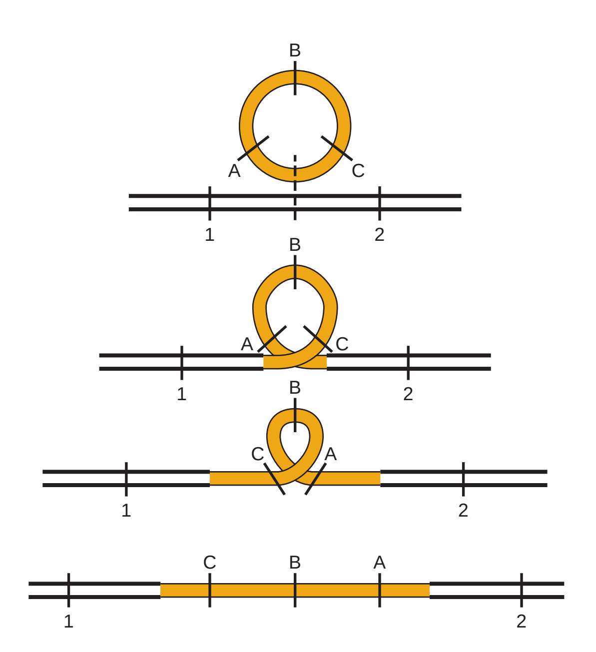


FIGURA 35-11 La integración de un genoma circular de un virus (con genes A, B y C) hacia la molécula de DNA de un huésped (con genes 1 y 2) y el ordenamiento consiguiente de los genes.

La conversión de gen produce reordenamientos

Además de entrecruzamiento desigual y transposición, un tercer mecanismo puede producir cambios rápidos en el material genético. Secuencias similares en cromosomas homólogos o no homólogos en ocasiones pueden parearse y eliminar cualquier secuencia desproporcionada entre ellas. Esto puede llevar a la fijación accidental de una variante u otra en toda una familia de secuencias repetidas y, de esta manera, homogeneizar las secuencias de los miembros de las familias de DNA repetitivo. Este último proceso se llama **conversión de gen**.

Cromátides hermanas se intercambian

En organismos eucarióticos diploides, como los seres humanos, después de que las células progresan por la fase S, tienen un contenido tetraploide de DNA, que se encuentra en la forma de cromátides



FIGURA 35-12 Intercambios de cromátides hermanas entre cromosomas de ser humano, los cuales son detectables mediante tinción de Giemsa de los cromosomas de células replicadas durante dos ciclos en presencia de bromodesoxiuridina. Las flechas indican algunas regiones de intercambio. (Cortesía de S Wolff y J Bodycote.)

hermanas de pares de cromosomas (fig. 35-6). Cada cromátide hermana contiene información genética idéntica dado que cada una es un producto de la replicación semiconservadora de la molécula de DNA madre original de ese cromosoma. Puede haber entrecruzamiento entre estas cromátides hermanas idénticas desde el punto de vista genético. Por supuesto, estos **intercambios de cromátides hermanas** (fig. 35-12) carecen de consecuencias genéticas en tanto el intercambio sea el resultado de un entrecruzamiento igual.

Los genes que codifican para inmunoglobulina se reordenan

En células de mamífero, algunos reordenamientos génicos interesantes se producen en circunstancias normales durante el desarrollo y la diferenciación. Por ejemplo, en ratones los genes V_L y C_L que codifican para una molécula única de inmunoglobulina (cap. 38) están ampliamente separados en el DNA de la línea germinal. En el DNA de una célula productora de inmunoglobulina (plasmática) diferenciada, los mismos genes V_L y C_L se han movido físicamente para acercarse en el genoma, y hacia la misma unidad de transcripción. No obstante, incluso entonces, este reordenamiento de DNA en el transcurso de la diferenciación no produce contigüidad de los genes V_L y C_L en el DNA. En lugar de eso, el DNA contiene una secuencia intercalada o de interrupción de alrededor de 1 200 pares de bases en la unión de las regiones V y C o cerca de la misma. La secuencia intercalada se transcribe hacia RNA junto con los genes V_L y C_L, y la información entremezclada se elimina del RNA durante su procesamiento nuclear (caps. 36 y 38).

LA SÍNTESIS Y REPLICACIÓN DE DNA ESTÁN CONTROLADAS DE FORMA ESTRICTA

Queda claro que la función primaria de la replicación del DNA es el suministro de progenie con la información genética poseída por el progenitor. De este modo, la replicación del DNA debe ser completa y efectuarse de tal manera que mantenga estabilidad genética dentro del organismo y la especie. El proceso de replicación del DNA es complejo y comprende muchas funciones celulares y varios procedimientos de verificación para asegurar fidelidad en la replicación. Alrededor de 30 proteínas participan en la replicación del cromosoma de *E. coli*, y este proceso es más complejo en organismos eucarióticos. Arthur Kornberg hizo las primeras observaciones enzimológicas acerca de replicación de DNA; describió en *E. coli* la existencia de una enzima ahora denominada DNA polimerasa I. Esta enzima tiene múltiples actividades catalíticas, una estructura compleja, y un requerimiento de los trifosfatos de los cuatro desoxirribonucleósidos de adenina, guanina, citosina y timina. La reacción de polimerización catalizada por la DNA polimerasa I de *E. coli* ha servido como prototipo para todas las DNA polimerasas tanto de procariotas como de eucariotas, aun cuando ahora se reconoce que la principal función de esta polimerasa es la corrección de pruebas y la reparación.

En todas las células, la replicación únicamente puede ocurrir a partir de un molde de DNA monocatenario (ssDNA). En consecuencia, debe haber mecanismos para dirigir el sitio de inicio de la replicación y para desenrollar el DNA bicatenario (dsDNA) en esa región. A continuación debe formarse el complejo de replicación. Luego de que se completa la replicación en un área, las cadenas madre e hija tienen que volver a formar dsDNA. En células eucarióticas se requiere un paso adicional. El dsDNA debe volver a formar la estructura de cromatina, incluso nucleosomas, que existió antes del inicio de la replicación. Aunque todo este proceso no se entiende por completo en células eucarióticas, la replicación se ha descrito con bastante exactitud en células procarióticas, y los principios generales son los mismos en ambas. Los principales pasos se listan en el cuadro 35-4, se ilustran en la figura 35-13, y se comentan, en secuencia, a continuación. Este proceso involucra varias proteínas, casi todas con acción enzimática específica (cuadro 35-5).

El origen de la replicación

En el **origen de replicación (ori)** hay una asociación de proteínas de unión a dsDNA específicas para secuencia, con una serie de se-

CUADRO 35-4 Pasos comprendidos en la replicación de DNA en eucariotas

1. Identificación de los orígenes de replicación
2. Desenrollado (desnaturalización) de dsDNA para proporcionar un molde de ssDNA
3. Formación de la horquilla de replicación; síntesis de RNA iniciador
4. Inicio de la síntesis y el alargamiento de DNA
5. Formación de burbujas de replicación con ligadura de los segmentos de DNA recién sintetizados
6. Reconstitución de la estructura de cromatina

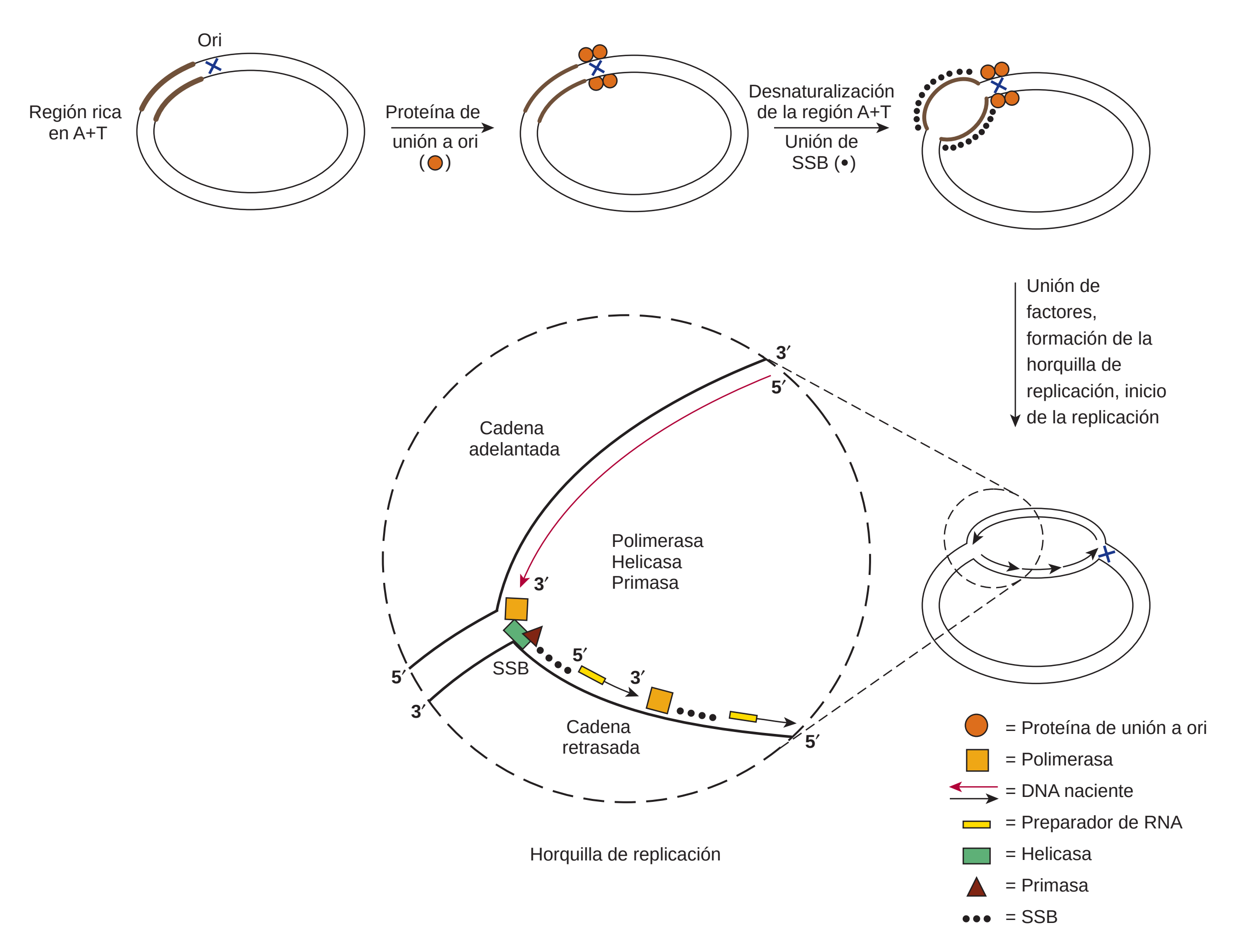


FIGURA 35-13 Pasos incluidos en la replicación de DNA. Esta figura describe la replicación de DNA en una célula de *E. coli*, pero los pasos generales son similares en eucariotas. Una interacción específica de una proteína (la proteína dnaA) con el origen de replicación (oriC) produce desenrollado local del DNA en una región adyacente rica en A + T. El DNA en esta área se mantiene en la conformación de cadena única (ssDNA) por medio de proteínas de unión a cadena única (SSB). Esto permite que diversas proteínas, entre ellas la helicasa, primasa y DNA polimerasa, se unan e inicien la síntesis de DNA. La horquilla de replicación procede conforme la síntesis de DNA sucede de manera continua (flecha roja larga) sobre la cadena adelantada, y de modo discontinuo (flechas de color negro cortas) en la cadena retrasada. El DNA naciente siempre se sintetiza en la dirección 5' a 3', dado que las DNA polimerasas sólo pueden añadir un nucleótido al extremo 3' de una cadena de DNA.

cuencias de DNA repetidas directas. En el bacteriófago λ, el oriλ es unido por la proteína O codificada por λ a cuatro sitios adyacentes. En *E. coli*, el oriC es unido por la proteína dnaA. En ambos casos se forma un complejo que consta de 150 a 250 bp de DNA y multímeros de la proteína de unión a DNA. Esto da pie a la desnaturalización y el desenrollado locales de una región de DNA rica en A+T. En células de levadura se han identificado **secuencias de replicación autónoma (ARS)** o **replicadores**, similares en el aspecto funcional. Las ARS contienen una secuencia de 11 bp un poco degenerada llamada el **elemento de replicación de origen (ORE)**. El ORE se une a un grupo de proteínas, análogas a la proteína dnaA de *E. coli*; el grupo de proteínas se denomina en conjunto el **complejo de reconocimiento de origen (ORC)**. Se han encontrado homólogos de ORC en todos los eucariotas examinados. El ORE está ubicado adyacente a una secuencia rica en A+T de unos 80 bp que es fácil de desenrollar, la cual recibe el nombre de **elemento de desenrollado de DNA (DUE)**. El DUE es el origen de la replicación en levaduras y es unido por el complejo de proteínas MCM.

En células de mamífero no se ha logrado un consenso en la definición precisa de secuencias similares en estructura a ori o ARS,

CUADRO 35-5 Clases de proteínas comprendidas en la replicación

Proteína	Función
DNA polimerasas	Polimerización de desoxinucleótido
Helicasas	Desenrollamiento procesivo de DNA
Topoisomerasas	Alivia la tensión de torsión que se produce por desenrollado inducido por helicasa
DNA primasa	Inicia la síntesis de RNA iniciadores
Proteínas de unión de cadena sencilla	Evita el retemplado prematuro de dsDNA
DNA ligasa	Sella la muesca de cadena sencilla entre la cadena naciente y fragmentos de Okazaki en la cadena retrasada

aun cuando se han identificado varias de las proteínas que participan en el reconocimiento y la función de ori, y parecen bastante similares a sus homólogos en levaduras tanto en secuencia de aminoácidos como en función.

Desenrollado del DNA

La interacción de proteínas con ori define el sitio de inicio de la replicación, y proporciona una región corta de ssDNA esencial para el inicio de la síntesis de la cadena de DNA naciente. Este proceso necesita la formación de varias interacciones entre una proteína y otra, y entre proteína y DNA. Una DNA helicasa que permite el desenrollado procesivo de DNA proporciona un paso crítico. En *E. coli* no infectada, un complejo de dnaB helicasa y la proteína dnaC provee esta función. Proteínas de unión a DNA monocatenario (SSB) estabilizan este complejo. En *E. coli* infectada por fago λ, la proteína P del fago se une a dnaB, y el complejo de P/dnaB a oriλ al interactuar con la proteína O. La dnaB no es una helicasa activa cuando está en el complejo de P/dnaB/O. Tres proteínas de choque por calor de *E. coli* (dnaK, dnaJ y GrpE) cooperan para eliminar la proteína P y activar la dnaB helicasa. En cooperación con SSB, esto lleva al desenrollado y replicación activa del DNA. Así, la replicación del fago λ se logra a expensas de la replicación de la célula de *E. coli* huésped.

Formación de la horquilla de replicación

Una horquilla de replicación consta de cuatro componentes que se forman en la secuencia que sigue: 1) la DNA helicasa desenrolla un segmento corto del DNA dúplex madre; 2) una primasa inicia la síntesis de una molécula de RNA que es esencial para preparar la síntesis de DNA; 3) la DNA polimerasa inicia la síntesis de la cadena hija, naciente, y 4) las SSB se unen al ssDNA y evitan el realineamiento prematuro de ssDNA hacia dsDNA. Dichas reacciones se ilustran en la figura 35-13.

La enzima polimerasa III (el producto del gen *dnaE* en *E. coli*) se une a DNA molde como parte de un complejo de múltiples proteínas que consta de varios factores accesorios de polimerasa (β, γ, δ, δ′ y τ). Las DNA polimerasas sólo sintetizan DNA en la dirección 5′ a 3′, y únicamente uno de los varios tipos diferentes de polimerasas participa en la horquilla de replicación. Puesto que las cadenas de DNA son antiparalelas (cap. 34), la polimerasa funciona de modo asimétrico. En la **cadena líder** (**hacia adelante**, también denominada cadena guía o conductora), el DNA se sintetiza de manera continua. En la **cadena retrasada** (**retrógrada**, también llamada cadena rezagada o retardada), el DNA se sintetiza en fragmentos cortos (1 a 5 kb; fig. 35-16), los denominados **fragmentos de Okazaki**. Varios de estos fragmentos (hasta mil) deben sintetizarse de modo secuencial para cada horquilla de replicación. Con el fin de asegurar que esto suceda, la helicasa actúa sobre la cadena retrasada para desenrollar dsDNA en una dirección 5′ a 3′. La helicasa se asocia con la primasa para permitir a esta última acceso apropiado al molde, lo anterior permite que sea formado el iniciador de RNA y, a su vez, que la polimerasa empiece a replicar el DNA. Se trata de una secuencia de reacción importante dado que las DNA polimerasas no pueden iniciar la síntesis de DNA *de novo*. El complejo móvil entre helicasa y primasa se ha llamado un **primosoma**. Conforme se completa la síntesis de un fragmento de Okazaki y se libera la polimerasa, se ha sintetizado un nuevo iniciador. La misma molécula de polimerasa permanece asociada con la horquilla de replicación, y procede a sintetizar el siguiente fragmento de Okazaki.

El complejo de DNA polimerasa

Varias moléculas de DNA polimerasa diferentes se encargan de la replicación de DNA y comparten tres propiedades importantes: 1) **alargamiento de cadena**; 2) **procesividad**, y 3) **corrección de pruebas**. El alargamiento de cadena explica el índice (en nucleótidos por segundo, ntd/s) al cual ocurre la polimerización. La procesividad es una expresión del número de nucleótidos añadidos a la cadena naciente antes de que la polimerasa se separe del molde. La función de corrección de pruebas identifica errores de copiado y los corrige. En *E. coli*, la polimerasa III (pol III) funciona en la horquilla de replicación. De todas las polimerasas, cataliza el índice más alto de alargamiento de cadena, y es la más procesiva. Tiene la capacidad de polimerizar 0.5 Mb de DNA durante un ciclo en la cadena líder. La Pol III es un complejo proteínico de múltiples subunidades, grande (> 1 MDa), en *E. coli*. La DNA pol III se asocia con las dos subunidades β idénticas de la "abrazadera" de deslizamiento de DNA; esta asociación aumenta de manera notoria la estabilidad del complejo de pol III-DNA, la procesividad (10 ntd a > 50 000 ntd) y el índice de alargamiento de cadena (20 a 50 ntd/s), lo que genera el alto grado de procesividad que demuestra la enzima.

Las polimerasas I (pol I) y II (pol II) participan en su mayor parte en la corrección de pruebas y la reparación de DNA. Las células eucarióticas tienen homólogos para cada una de estas enzimas, más un número grande de DNA polimerasas adicionales que participan de modo primario en la reparación del DNA. El cuadro 35-6 muestra una comparación.

En células de mamífero, la polimerasa tiene la capacidad de polimerizar a un índice que es un poco más lento que el índice de polimerización de desoxinucleótidos por el complejo de DNA polimerasa bacteriano. Este índice disminuido quizá depende de interferencia por nucleosomas.

Inicio y alargamiento de la síntesis de DNA

El inicio de la síntesis de DNA (fig. 35-14) requiere **preparación por un tramo corto de RNA**, de alrededor de 10 a 200 nucleótidos de largo.

CUADRO 35-6 Una comparación de DNA polimerasas procariótica y eucariótica

E. coli	Eucariótica	Función
I		Llenado de brecha después de replicación, reparación y recombinación de DNA
II		Lectura de pruebas y reparación de DNA
	β	Reparación de DNA
	γ	Síntesis de DNA mitocondrial
III	ε	Síntesis de cadena adelantada, procesiva
DnaG	α	Primasa
	δ	Síntesis de cadena retrasada, procesiva

En *E. coli* esto es catalizado por la dnaG (primasa); en eucariotas la DNA Pol α sintetiza estos RNA iniciadores. El proceso de preparación incluye ataque nucleofílico por el grupo 3′-hidroxilo del iniciador de RNA sobre el fosfato del desoxinucleósido trifosfato que entra primero (N en la fig. 35-14) con separación de pirofosfato; esta transición hacia síntesis de DNA es catalizada por las DNA polimerasas apropiadas (DNA pol III en *E. coli*; DNA pol δ y ε en eucariotas). El grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosfato recientemente fijado queda libre entonces para llevar a cabo un **ataque nucleofílico** sobre el siguiente desoxirribonucleósido

Preparador de RNA

dNTP que entra primero

Segundo dNTP que entra

FIGURA 35-14 El inicio de la síntesis de DNA sobre un iniciador de RNA, y la fijación subsiguiente del segundo desoxirribonucleósido trifosfato.

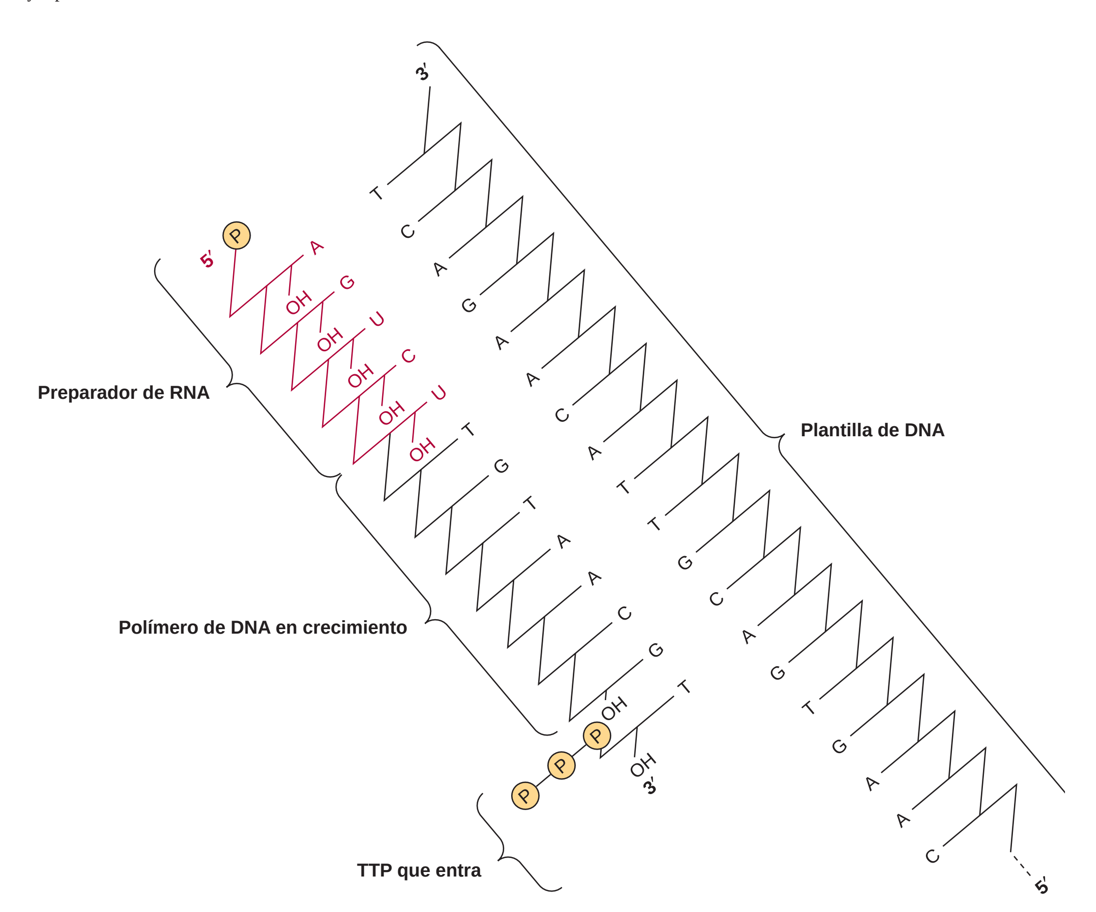


FIGURA 35-15 La síntesis de DNA utilizando un RNA iniciador y que demuestra la función de molde de la cadena complementaria del DNA parental.

trifosfato que entre (N+1 en la fig. 35-14), de nuevo en su porción fosfato α, con la separación de pirofosfato. Por supuesto, la selección del desoxirribonucleótido apropiado cuyo grupo 3′-hidroxilo terminal va a ser atacado depende de la **formación apropiada de pares de bases con la otra cadena** de la molécula de DNA de acuerdo con las reglas propuestas originalmente por Watson y Crick (fig. 35-15). Cuando una porción adenina desoxirribonucleósido monofosforilo está en la posición de molde, una timidina trifosfato entrará, y el grupo 3′-hidroxilo del desoxirribonucleósido monofosforilo añadido más recientemente al polímero atacará su fosfato α. Por medio de este proceso por pasos, el molde dicta cuál desoxirribonucleósido trifosfato es complementario, y mediante enlaces de hidrógeno lo sostiene en su sitio mientras el grupo 3′-hidroxilo de la cadena en crecimiento ataca e incorpora el nuevo nucleótido hacia el polímero.

Estos segmentos de DNA fijos a un componente de RNA iniciador son los **fragmentos de Okazaki** (fig. 35-16). En mamíferos, después de que se generan muchos de estos fragmentos, el complejo de replicación empieza a eliminar los iniciadores de RNA, a llenar las brechas dejadas por su eliminación con el desoxinucleótido pareado con base apropiado, y luego a sellar los fragmentos de DNA recién sintetizado, por medio de enzimas denominadas **DNA ligasas**.

La replicación muestra polaridad

Como se mencionó, las moléculas de DNA son bicatenarias, y las dos cadenas son antiparalelas. La replicación de DNA en procariotas y eucariotas sucede en ambas cadenas a la vez. Sin embargo, una enzima que tiene la capacidad de polimerizar DNA en la dirección

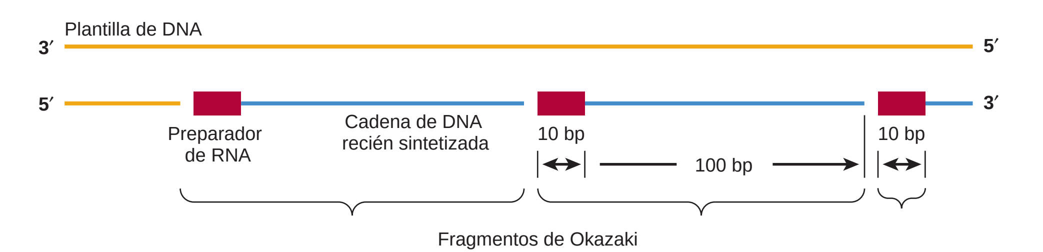


FIGURA 35-16 La polimerización discontinua de desoxirribonucleótidos en la cadena retrasada; se ilustra la formación de fragmentos de Okazaki durante la síntesis de DNA de cadena retrasada. Dichos fragmentos tienen 100 a 250 nt de largo en eucariotas, y 1 000 a 2 000 bp en procariotas.

3′ a 5′ no existe en organismo alguno, de manera que las dos cadenas de DNA recién replicadas no pueden crecer en la misma dirección de modo simultáneo. Empero, la misma enzima replica a ambas cadenas al mismo tiempo. La enzima única replica una cadena ("cadena adelantada") de una manera continua en la dirección 5′ a 3′, con la misma dirección hacia adelante. Replica la otra cadena ("cadena retrasada") de modo discontinuo mientras polimeriza los nucleótidos en sucesiones cortas de 150 a 250 nucleótidos, de nuevo en la dirección 5′ a 3′, pero al mismo tiempo mira hacia el extremo posterior del iniciador de RNA precedente en lugar de hacia la porción no replicada. Este proceso de **síntesis de DNA semidiscontinua** se muestra en un diagrama en las figuras 35-13 y 35-16.

Formación de burbujas de replicación

La replicación procede desde un ori único en el cromosoma bacteriano circular, compuesto de aproximadamente 5×10^6 bp de DNA. Este proceso se completa en alrededor de 30 min, un índice de replicación de 3×10^5 bp/min. El genoma de mamífero completo se replica en aproximadamente 9 h, el periodo promedio requerido para la formación de un genoma tetraploide a partir de un genoma diploide en una célula en replicación. Si un genoma de mamífero (3×10^9 bp) se replica al mismo índice que en las bacterias (es decir, 3×10^5 bp/min) a partir de un ori único, la replicación tardaría más de 150 h. Los organismos metazoarios sortean este problema usando dos estrategias. En primer lugar, la replicación es bidireccional. En segundo lugar, la replicación procede desde orígenes múltiples en cada cromosoma (un total de hasta 100 en seres humanos). De esta manera, la replicación se produce en ambas direcciones a lo largo de todos los cromosomas, y ambas cadenas se replican a la vez. Este proceso de replicación genera **"burbujas de replicación"** (fig. 35-17).

Los múltiples sitios que sirven como orígenes para la replicación de DNA en eucariotas están poco definidos, excepto en algunos virus de animales, y en levaduras. Con todo, está claro que el inicio está regulado en los aspectos tanto espacial como temporal, puesto que agrupaciones de sitios adyacentes inician la replicación de modo sincrónico. La activación de la replicación, o el inicio de la replicación de DNA en un replicador/ori, está influida por varias propiedades bien determinadas de la estructura de cromatina, que apenas están empezando a entenderse. Aun así, está claro que hay más replicadores y ORC excesivo que los necesarios para replicar el genoma de mamíferos dentro del tiempo de una fase S típica; por ende, debe haber mecanismos para controlar el exceso de replicadores unidos a ORC. El entendimiento del control de este proceso es un desafío importante.

Durante la replicación de DNA, debe haber una separación de las dos cadenas para permitir que cada una sirva como un molde al unir con hidrógeno sus bases nucleótido al desoxinucleótido trifosfato que está entrando. La separación de la doble hélice de DNA es promovida por SSB en *E. coli*, una proteína llamada proteína de replicación a (RPA) en eucariotas. Estas moléculas estabilizan la estructura monocatenaria a medida que progresa la horquilla de replicación. Las proteínas estabilizantes se unen de manera cooperadora y estequiométrica a las cadenas únicas sin interferir con las capacidades de los nucleótidos para servir como plantillas (fig. 35-13). Además de separar las dos cadenas de la doble hélice, debe haber un desenrollado de la molécula (una vez cada 10 pares de nucleótidos) para permitir la separación de cadena. El complejo proteínico de DNA β hexamérico desenrolla DNA en *E. coli*, mientras que el complejo hexamérico MCM desenrolla el DNA eucariótico. Este desenrollado ocurre en segmentos adyacentes a la burbuja de replicación, para contrarrestarlo hay múltiples "uniones giratorias" entremezcladas en las moléculas de DNA de todos los organismos. La función de giro es proporcionada por enzimas específicas que introducen **"muescas" en una cadena de la doble hélice que se está desenrollando**, lo que permite que proceda el proceso de desenrollado. Las muescas se vuelven a sellar con rapidez y sin requerir ingreso de energía, debido a la formación de un enlace covalente de alta energía entre el esqueleto de fosfodiéster que tiene la muesca y la enzima de resellado de muescas; este último tipo de enzima recibe el nombre de **DNA topoisomerasas**. Dicho proceso se describe en un diagrama en la figura 35-18, y ahí se compara con el resellado dependiente de ATP llevado a cabo por las DNA ligasas. Las topoisomerasas también tienen la capacidad de desenrollar DNA superenrollado; éste es una estructura de orden superior que se encuentra en moléculas de DNA circulares envueltas alrededor de un centro (fig. 35-19).

En una especie de virus de animales (retrovirus) hay una clase de enzimas capaz de sintetizar una molécula de DNA monocatenaria y después una bicatenaria a partir de un molde de RNA monocatenario. Esta polimerasa, la DNA polimerasa dependiente de RNA, o **"transcriptasa inversa"**, sintetiza primero una molécula híbrida

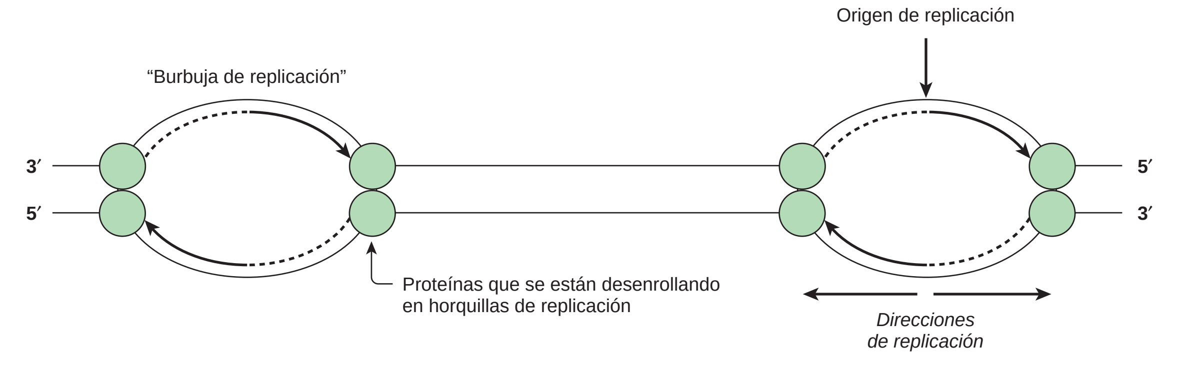


FIGURA 35-17 La generación de "burbujas de replicación" durante el proceso de síntesis de DNA. Se describen la replicación bidireccional y las posiciones propuestas de proteínas que se están desenrollando en las horquillas de replicación.

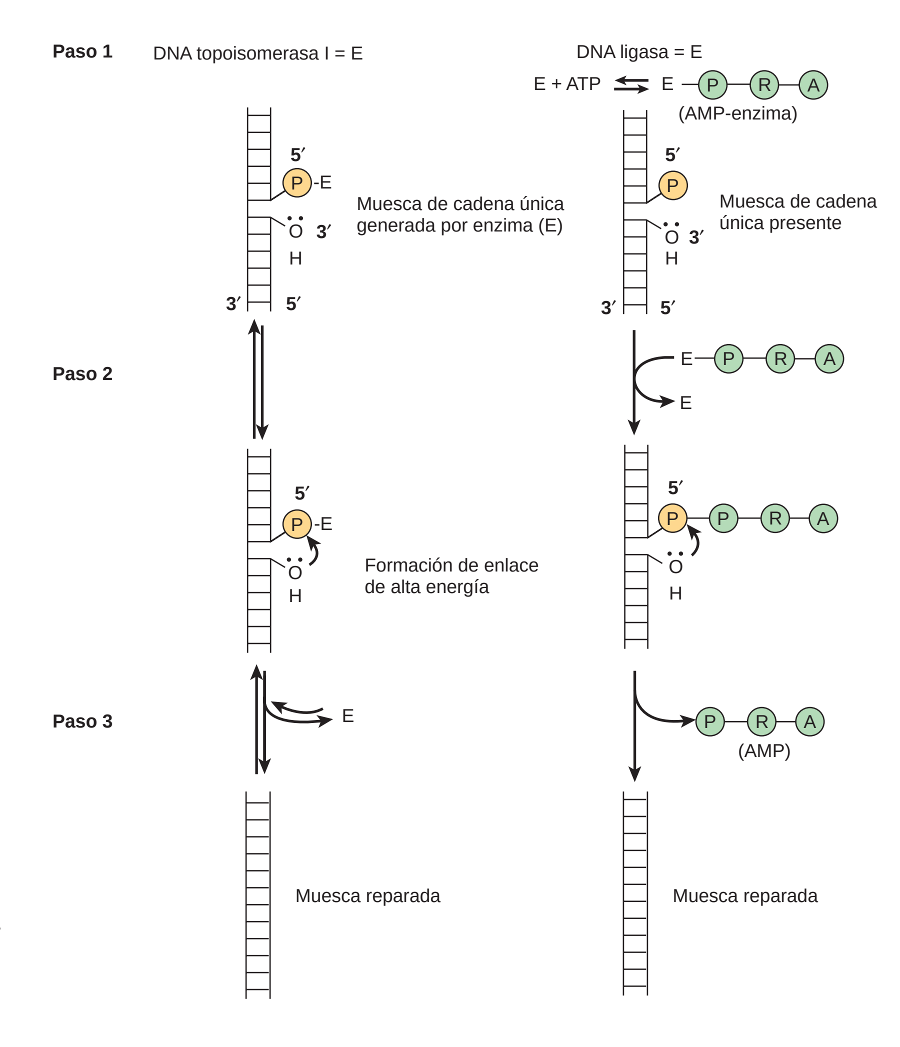


FIGURA 35-18 Comparación de dos tipos de reacciones de sellado de muescas en el DNA. La serie de reacciones a la izquierda es catalizada por la DNA topoisomerasa I, y la de la derecha por la DNA ligasa; P, fosfato; R, ribosa; A, adenina. (Modificada un poco, y reproducida, con autorización, de Lehninger AL: *Biochemistry*, 2nd ed. Worth, 1975. Copyright ©1975 por Worth Publishers. Usado con autorización de W. H. Freeman and Company.)

de DNA-RNA utilizando el genoma de RNA como una plantilla. Una nucleasa codificada por virus específica, la **RNasa H**, degrada a la cadena de RNA plantilla hibridada y la cadena de DNA restante, a su vez, sirve como una plantilla para formar una molécula de DNA bicatenaria que contiene la información originalmente presente en el genoma RNA del virus de animal.

Reconstitución de la estructura de cromatina

Hay evidencia de que la organización nuclear y la estructura de cromatina están involucradas en la determinación de la regulación y el inicio de la síntesis de DNA. Como se comentó, el índice de polimerización en células eucarióticas, que tienen cromatina y nucleosomas, es más lento que el que se observa en células procariotas, que tienen DNA desnudo. También está claro que la estructura de cromatina debe volver a formarse luego de la replicación. El DNA recién replicado se ensambla con rapidez hacia nucleosomas, y los octámeros de histonas preexistentes y recién ensamblados se distribuyen al azar hacia cada brazo de la horquilla de replicación. Estas reacciones se facilitan mediante las acciones de proteínas chaperonas de histona que trabajan conjuntamente con complejos remodeladores de cromatina.

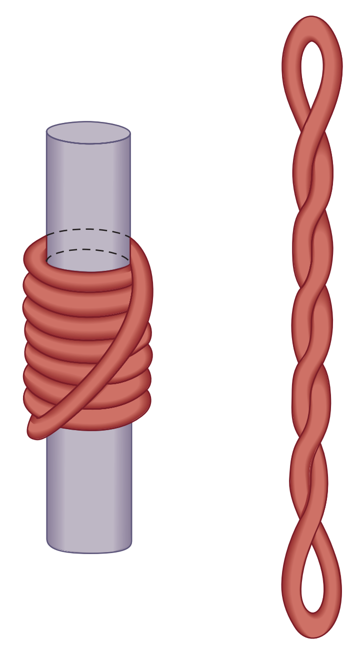


FIGURA 35-19 Superenrollamiento de DNA. Una superhélice toroidal siniestra (solenoidal), a la izquierda, se convertirá en una superhélice diestra que gira sobre sí misma, a la derecha, cuando se elimina el centro cilíndrico. Esa transición es análoga a la que se produce cuando los nucleosomas se alteran mediante la extracción de histonas desde la cromatina en un medio con concentración alta de sal.

El DNA se sintetiza durante la fase S del ciclo celular

En células de animales, incluso células de seres humanos, el genoma de DNA sólo se replica en un momento especificado en el transcurso del lapso de vida de las células. Este periodo se llama la fase sintética o S. Esto por lo general está separado temporalmente de la fase mitótica o **fase M**, por periodos no sintéticos denominados **gap 1 (G1)** y **gap 2 (G2)**, que ocurren antes y después de la **fase S**, respectivamente (fig. 35-20). Entre otras cosas, la célula se prepara para la síntesis de DNA durante G1, y para la mitosis durante G2. La célula regula el proceso de síntesis de DNA al permitir que únicamente suceda en momentos específicos y en su mayor parte en células que se están preparando para dividirse por medio de un proceso mitótico.

Todas las células eucarióticas tienen productos de gen que rigen la transición desde una fase del ciclo celular hacia la otra. Las **ciclinas** son una familia de proteínas cuya concentración se incrementa y disminuye durante todo el ciclo celular; de ahí su nombre. Las ciclinas activan, en el momento apropiado, diferentes **proteína cinasas dependientes de ciclina (CDK)** que fosforilan sustratos esenciales para la progresión por el ciclo celular (fig. 35-21). Por ejemplo, las cifras de ciclina D aumentan al final de la fase G1 y permiten la progresión más allá del punto de **inicio (levadura)** o **de restricción (mamíferos)**, donde las células proceden de modo irrevocable hacia la fase S o de síntesis de DNA.

Las ciclinas D activan CDK4 y CDK6. Estas dos cinasas también se sintetizan en el transcurso de G1 en células que se están dividiendo de manera activa. Las ciclinas D y CDK4 y CDK6 son proteínas nucleares que se ensamblan como un complejo al final de la fase G1. El complejo es una serina-treonina proteína cinasa activa. Un sustrato para esta cinasa es la proteína de retinoblastoma (Rb).

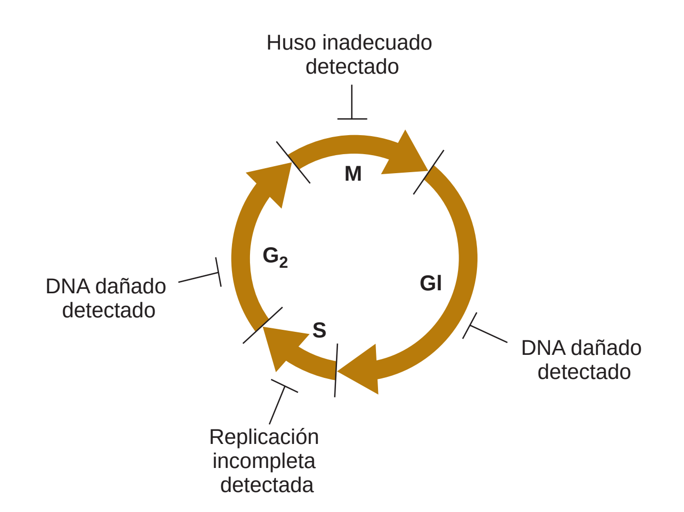


FIGURA 35-20 Ciclo celular de mamífero y puntos de control del ciclo celular. La integridad del DNA, el cromosoma y la segregación del cromosoma se monitorea de manera continua durante todo el ciclo celular. Si se detecta daño del DNA en la fase G1 o la G2 del ciclo celular, si el genoma está replicado de modo incompleto, o si la maquinaria de segregación de cromosoma normal es incompleta (o sea, un huso defectuoso), las células no progresarán por la fase del ciclo en el cual se detectan defectos. En algunos casos, si es imposible reparar el daño, esas células pasan por muerte celular programada (apoptosis).

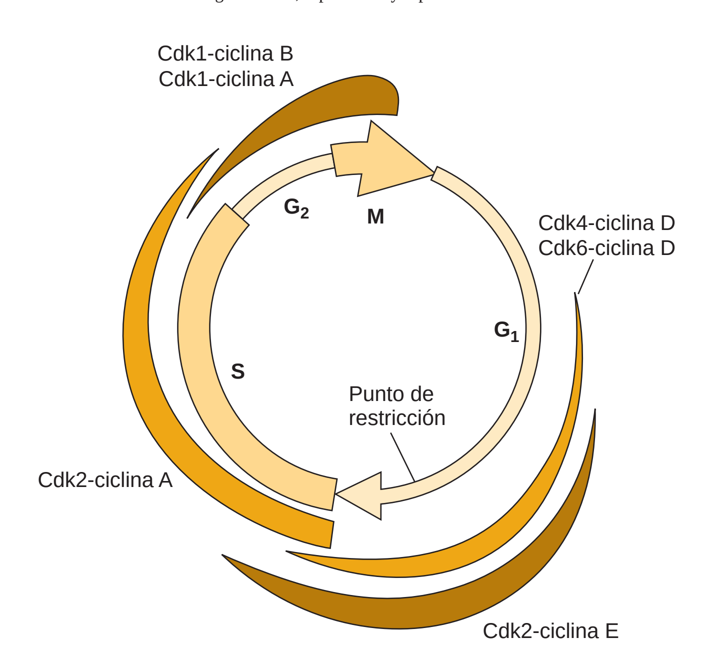


FIGURA 35-21 Ilustración esquemática de los puntos en el transcurso del ciclo celular de mamífero, durante los cuales se activan las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclina indicadas. El grosor de las diversas líneas coloreadas indica la extensión de la actividad.

La Rb es un regulador del ciclo celular porque se une a, y desactiva, un factor de transcripción (E2F) necesario para la transcripción de ciertos genes (genes que codifican para histona, proteínas de replicación de DNA, etc.) necesarios para la progresión desde la fase G1 hacia la S. La fosforilación de Rb por CDK4 o CDK6 produce liberación de E2F desde Rb por represión de la transcripción mediada por Rb; de este modo, surge activación de gen, y tiene lugar progresión del ciclo celular.

Otras ciclinas y CDK participan en diferentes aspectos de la progresión del ciclo celular (cuadro 35-7). La ciclina E y la CDK2 forman un complejo al final de G1. La ciclina E se degrada con rapidez, y la CDK2 liberada a continuación forma un complejo con la ciclina A. Esta secuencia es necesaria para el inicio de la síntesis de DNA durante la fase S. Un complejo entre ciclina B y CDK1 es limitante para la transición G2/M en células eucarióticas.

Muchos de los virus que ocasionan cáncer (oncovirus) y de los genes que inducen cáncer (oncogenes) tienen la capacidad para aliviar o alterar la restricción manifiesta que normalmente controla la entrada de células de mamífero desde la fase G1 hacia la S. Con base en lo anterior, podría haberse conjeturado que la producción excesiva de una ciclina, la pérdida de un inhibidor de CDK específico, o

CUADRO 35-7 Ciclinas y cinasas dependientes de ciclina involucradas en la progresión del ciclo celular

Ciclina	Cinasa	Función
D	CDK4, CDK6	Progresión más allá del punto de restricción en el límite G1/S
E, A	CDK2	Inicio de las síntesis de DNA en la fase S temprana
B	CDK1	Transición desde G2 hacia M

la producción o activación de una ciclina/CDK en un momento inapropiado podría traducirse en división celular anormal o irrestricta. En este contexto cabe hacer notar que el oncogén *bcl* vinculado con el linfoma de células B parece ser el gen que codifica para la ciclina D1. De manera similar, las oncoproteínas (o proteínas transformadoras) producidas por varios virus DNA se dirigen al represor de la transcripción Rb para desactivación, lo que induce división celular de modo inapropiado.

En el transcurso de la fase S, las células de mamífero contienen cantidades más grandes de DNA polimerasa que durante las fases no sintéticas del ciclo celular. Más aún, también hay incremento de la actividad de las enzimas de las cuales depende la formación de los sustratos para la síntesis de DNA —es decir, desoxirribonucleósido trifosfatos— y su actividad disminuirá luego de la fase sintética en tanto no reaparezca la señal para síntesis renovada de DNA. En el transcurso de la fase S, el **DNA nuclear se replica por completo una vez y sólo una vez**. Parece ser que ya que la cromatina se ha replicado, se marca de manera que se impida su replicación adicional en tanto no pase otra vez por mitosis. Los mecanismos moleculares para este fenómeno se están dilucidando.

En general, un par dado de cromosomas se replicará de modo simultáneo y dentro de una porción fija de la fase S en el momento de cada replicación. En un cromosoma, agrupaciones de unidades de replicación se replican de manera coordinada. Se desconoce la naturaleza de las señales que regulan la síntesis de DNA a estos niveles, pero la regulación parece ser una propiedad intrínseca de cada cromosoma individual.

El DNA dañado se repara mediante enzimas

El mantenimiento de la integridad de la información en las moléculas de DNA es de lo más importante para la supervivencia de un organismo particular, así como para la supervivencia de la especie. De esta manera, se concluye que las especies sobrevivientes han adquirido por evolución mecanismos para reparar el daño del DNA que se produce como resultado de errores de replicación o de fenómenos adversos ambientales.

La principal responsabilidad para la fidelidad de la replicación reside en el pareado específico de bases de nucleótido (cap. 34). La formación apropiada de pares depende de la presencia de los tautómeros favorecidos de los nucleótidos purina y pirimidina, pero el equilibrio por el cual un tautómero es más estable que otro sólo es de alrededor de 10^4 o 10^5 a favor del que tiene la mayor estabilidad. Si bien esto no es la bastante favorable como para asegurar la fidelidad alta que se necesita, el favorecimiento de los tautómeros preferidos —y, de este modo, de la formación apropiada de pares de bases— podría asegurarse al monitorear la formación de pares de bases dos veces. Ese doble monitoreo parece ocurrir en sistemas tanto bacterianos como de mamífero: una vez en el momento de inserción de los desoxirribonucleósido trifosfatos, y más tarde por medio de un mecanismo de seguimiento que requiere energía, y que elimina todas las bases inapropiadas que es posible hallar en la cadena recién formada. Esta "corrección de lectura" evita que la incorporación errónea inducida por tautómero suceda más de una vez cada 10^8 a 10^{10} pares de bases de DNA sintetizado. Los mecanismos de los cuales depende este mecanismo de monitoreo en *E. coli* son las actividades de 3′ a 5′ exonucleasa de una de las subunidades del complejo de pol III y de la molécula pol I. Las enzimas de mamífero análogas (δ y α) no parecen poseer esa función de corrección de pruebas de nucleasa. Tal función de reparación reside en otras enzimas.

Los errores de replicación, incluso con un sistema de reparación muy eficiente, conducen a la acumulación de mutaciones. Un ser humano tiene 10^{14} células nucleadas, cada una de las cuales con 3×10^9 pares de bases de DNA. Si en un lapso de vida ocurren alrededor de 10^{16} divisiones celulares, y 10^{-10} mutaciones por par de base por generación de células escapa a la reparación, al final tal vez haya hasta una mutación por cada 10^6 bp en el genoma. Por fortuna, casi todas ésas probablemente ocurrirán en el DNA que no codifica para proteínas, o no afectarán la función de las proteínas codificadas y, de esta manera, carecen de consecuencias. Además, el daño del DNA espontáneo e inducido por sustancias químicas debe repararse.

El daño del DNA por agentes ambientales, físicos y químicos se clasifica en cuatro tipos (cuadro 35-8). Las regiones anormales de DNA, sea por errores de copiado o por daño del DNA, se remplazan mediante cuatro mecanismos: 1) reparación de errores de apareamiento; 2) reparación por escisión de base; 3) reparación por escisión de nucleótido, y 4) reparación de rotura de doble cadena (cuadro 35-9). Estos mecanismos aprovechan la redundancia de información inherente en la estructura de doble hélice del DNA. La región defectuosa en una cadena puede regresarse a su forma original al fundamentarse en la información complementaria almacenada en la cadena no afectada.

Reparación de errores de mal apareamiento

Corrige errores cometidos cuando se copia el DNA. Por ejemplo, una C podría insertarse en posición opuesta a una A, o la polimerasa podría deslizarse o trastabillar e insertar dos o más bases no pareadas extra. Proteínas específicas revisan el DNA recién sintetizado,

CUADRO 35-8 Tipos de daño del DNA

I. Alteración de bases únicas
A. Despurinización
B. Desaminación de citosina a uracilo
C. Desaminación de adenina a hipoxantina
D. Alquilación de base
E. Inserción o deleción de nucleótido
F. Incorporación de análogo de base
II. Alteración de dos bases
A. Dímero de timina-timina (pirimidina) inducido por luz UV
B. Entrecruzamiento por agente alquilante bifuncional
III. Roturas de cadena
A. Radiación ionizante
B. Desintegración radiactiva de elemento de esqueleto
C. Formación de radical libre oxidativo
IV. Entrecruzamiento
A. Entre bases en la misma cadena o en cadenas opuestas
B. Entre DNA y moléculas de proteína (p. ej., histonas)

CUADRO 35-9 Mecanismo de reparación del DNA

Mecanismo	Problema	Solución
Reparación de errores de apareamiento	Errores de copiado (base única o asas no pareadas de dos a cinco bases)	Corte de cadena dirigido hacia metilo, digestión por exonucleasa, y remplazo
Reparación por escisión de base	Daño espontáneo, por sustancias químicas o por radiación, de una base única	Eliminación de base mediante *N*-glucosilasa, eliminación de azúcar abásico, remplazo
Reparación por escisión de nucleótido	Daño espontáneo, por sustancias químicas o por radiación, de un segmento de DNA	Eliminación de un oligómero de aproximadamente 30 nucleótidos y remplazo
Reparación de rotura de doble cadena	Radiación ionizante, quimioterapia, radicales libres oxidativos	Sinapsis, desenrollamiento, alineamiento, ligadura

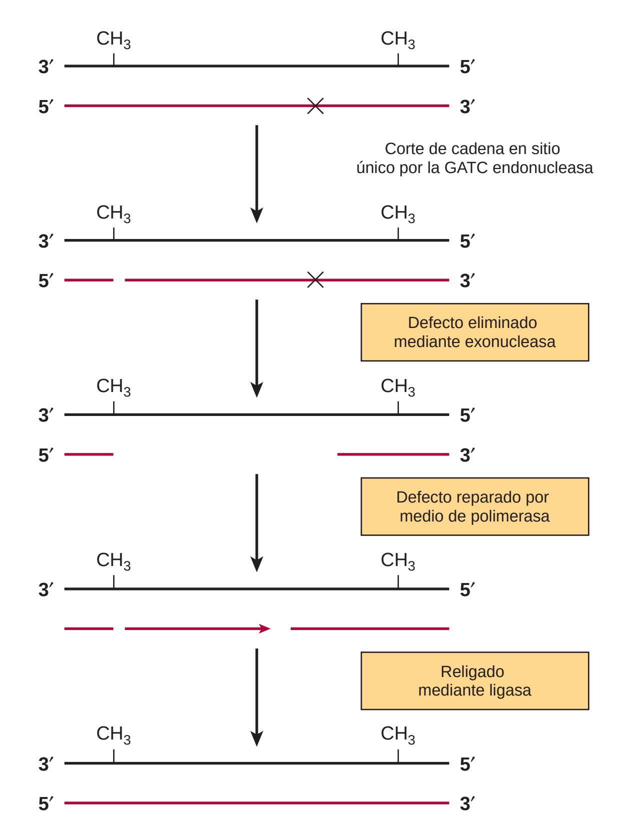


FIGURA 35-22 Reparación de errores de apareamiento de DNA. Este mecanismo corrige un error de apareamiento de par de base única (p. ej., C a A en lugar de T a A) una región corta de DNA no pareado. La región defectuosa es reconocida por una endonucleasa que hace un corte de cadena única en una secuencia GACT metilada adyacente. La cadena de DNA se elimina a través de la mutación, se remplaza y se vuelve a ligar.

usando metilación de adenina dentro de una secuencia GATC como el punto de referencia (fig. 35-22). La cadena molde está metilada, y la cadena recién sintetizada no lo está. Esta diferencia permite que las enzimas de reparación identifiquen la cadena que contiene el nucleótido errante que necesita remplazarse. Si se encuentra un error de apareamiento o un asa pequeña, una GATC endonucleasa corta la cadena que porta la mutación en un sitio que corresponde a la GATC. A continuación una exonucleasa digiere esta cadena desde la posición GATC hasta la mutación, lo que elimina el DNA defectuoso. Esto puede suceder desde uno u otro extremo si el defecto está entre dos sitios de GATC. A continuación, enzimas celulares normales llenan este defecto de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases. En *E. coli* se requieren tres proteínas (Mut S, Mut C y Mut H) para el reconocimiento de la mutación, y la formación de muescas en la cadena. Otras enzimas celulares, entre ellas ligasa, polimerasa y SSB, eliminan la cadena y la remplazan. El proceso es un poco más complicado en células de mamífero, dado que alrededor de seis proteínas participan en los primeros pasos.

La reparación fallida de errores de apareamiento se ha enlazado con cáncer de colon hereditario no poliposo (HNPCC), uno de los cánceres hereditarios más frecuentes. Estudios genéticos enlazaron al HNPCC en algunas familias a una región del cromosoma 2. Después se demostró que el gen localizado, designado *hMSH2*, codifica para el análogo humano de la proteína MutS de *E. coli* que participa en la reparación de errores de apareamiento (véase antes). Las mutaciones de *hMSH2* explican 50 a 60% de los casos de HNPCC. Otro gen, el *hMLH1*, se relaciona con casi todos los otros casos. *hMLH1* es el análogo humano del gen de reparación de errores de apareamiento bacteriano *MutL*. ¿De qué modo la reparación fallida de errores de apareamiento da por resultado cáncer de colon? Los genes humanos se localizaron porque se detectó inestabilidad de microsatélite. Esto es, las células cancerosas tenían un microsatélite de una longitud diferente del que se encuentra en las células normales del individuo. Parece ser que las células afectadas, que portan una enzima de reparación de errores de apareamiento *hMSH2* o *hMLH1* mutada, son incapaces de eliminar asas pequeñas de DNA no pareado y, así, el microsatélite aumenta de tamaño. Finalmente, la expansión de DNA microsatélite debe afectar la expresión o la función de una proteína crucial en la vigilancia del ciclo celular en estas células del colon.

Reparación por escisión de base

La **despurinización del DNA**, que se produce de manera espontánea debido a la labilidad térmica del enlace N-glucosídico de purina, ocurre a un índice de 5 000 a 10 000/célula/día a 37°C. Enzimas específicas reconocen un sitio despurinizado, y remplazan la purina apropiada de modo directo, sin interrupción del esqueleto fosfodiéster.

Las bases citosina, adenina y guanina en el DNA forman de manera espontánea uracilo, hipoxantina o xantina, respectivamente. Puesto que en circunstancias normales ninguna de éstas existe en el DNA, no sorprende que **N-glucosilasas** específicas puedan reconocer estas bases anormales y eliminar la base en sí del DNA. Esta eliminación marca el sitio del defecto y permite que una **endonucleasa apurínica** o **apirimidínica** extirpe el azúcar abásico. A continuación una DNA polimerasa de reparación remplaza la base apropiada, y una **ligasa** regresa el DNA a su estado original (fig. 35-23). Esta serie de eventos se llama reparación **por escisión de base**. Por

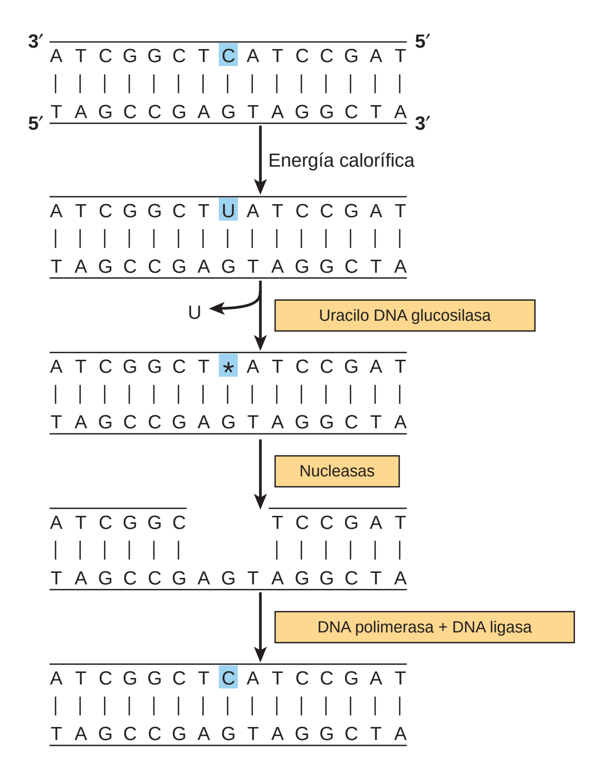


FIGURA 35-23 Reparación de DNA por escisión de base. La enzima uracilo-DNA-glucosilasa elimina el uracilo creado por desaminación espontánea de citosina en el DNA. Una endonucleasa corta el esqueleto cerca del defecto; a continuación, después de que una endonucleasa elimina algunas bases, el defecto se llena por la acción de una polimerasa de reparación, y una ligasa vuelve a unir la cadena. (Cortesía de B Alberts.)

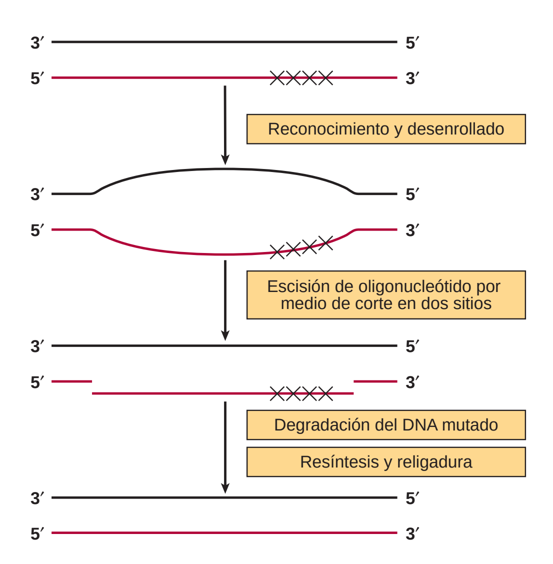


FIGURA 35-24 Reparación por escisión de nucleótido. Este mecanismo se emplea para corregir defectos de mayor tamaño en el DNA y por lo general comprende más proteínas que la reparación de los errores de apareamiento o por escisión de base. Luego de reconocimiento del defecto (indicado por XXXX) y de desenrollado del DNA que abarca el defecto, una nucleasa de escisión (escinucleasa) corta el DNA por arriba y abajo de la región defectuosa. Esta brecha después se llena por medio de una polimerasa (δ/ε en seres humanos) y se vuelve a ligar.

medio de una serie de pasos similar que comprende inicialmente el reconocimiento del defecto, pueden eliminarse bases alquiladas y análogos de base del DNA y regresar el DNA a su contenido informacional original. Este mecanismo es idóneo para el remplazo de una base única, pero es ineficaz para remplazar regiones de DNA dañado.

Reparación por escisión de nucleótido

Este mecanismo se usa para remplazar regiones de DNA dañado de hasta 30 bases de longitud. Las causas frecuentes de ese daño de DNA son luz ultravioleta (UV), que induce la formación de dímeros de ciclobutano pirimidinapirimidina, y tabaquismo, que causa la formación de aductos de benzo [*a*]pireno-guanina. La radiación ionizante, los quimioterápicos de cáncer, y diversas sustancias químicas que se encuentran en el ambiente, suscitan modificación de base, roturas de cadena, entrecruzamiento entre bases en cadenas opuestas o entre DNA y proteína, y muchos otros defectos, los cuales se reparan mediante un proceso denominado reparación por escisión de nucleótido (fig. 35-24). Este proceso, que incluye más productos de gen que los otros dos tipos de reparación, en esencia comprende la hidrólisis de dos enlaces fosfodiéster en la cadena que contiene el defecto. Una nucleasa de escisión especial (escinucleasa), que consta de por lo menos tres subunidades en *E. coli*, y de 16 polipéptidos en seres humanos, logra esta tarea. En células eucarióticas las enzimas cortan entre el tercer a quinto enlace fosfodiéster 3′ desde la lesión, y en el lado 5′ el corte se hace en algún lugar entre los enlaces vigésimo primero y vigésimo quinto. De este modo, se escinde un fragmento de DNA de 27 a 29 nucleótidos de largo. Después de que la cadena se elimina, se remplaza, de nuevo por medio de pareado de bases exacto, mediante la acción cooperadora de DNA polimerasa replicativa y de reparación múltiple ($\delta,\varepsilon,\eta,\iota$ en seres humanos), y los extremos se unen a las cadenas existentes por medio de la DNA ligasa.

El **xeroderma pigmentoso (XP)** es una enfermedad genética autosómica recesiva. El síndrome clínico incluye sensibilidad notoria a la luz solar (luz ultravioleta), con formación subsiguiente de múltiples cánceres cutáneos, y muerte prematura. En individuos con XP el riesgo de aparición de cáncer cutáneo se incrementa 1 000 a 2 000 veces. El defecto hereditario parece comprender la reparación de DNA dañado, en particular dímeros de timina. Las células en cultivo de pacientes con xeroderma pigmentoso muestran actividad baja para el proceso de reparación por escisión de nucleótido. Se han identificado siete grupos de complementación usando análisis de células híbridas, de manera que están involucrados al menos siete productos de gen (XPA a XPG). Dos de ellos (XPA y XPC) están incluidos en el reconocimiento y la escisión. XPB y XPD son helicasas y despierta interés que son subunidades del factor de transcripción de TFIIH (cap. 36).

Reparación de rotura de doble cadena

La reparación de roturas de doble cadena (ds) forma parte del proceso fisiológico de reordenamiento de gen que codifica para inmunoglobulina. También es un mecanismo importante para reparar DNA dañado, como sucede como resultado de radiación ionizante o generación de radicales libres oxidativos. Algunos agentes quimioterápicos destruyen células al producir roturas de ds o impedir su reparación.

Dos proteínas están inicialmente comprendidas en la restitución de la unión no homóloga de una rotura de ds. **Ku**, un heterodímero de subunidades de 70 y 86 kDa, se une a extremos de DNA libres, y tiene actividad latente de helicasa dependiente de ATP. El heterodímero Ku unido a DNA recluta una proteína cinasa única, la **proteína cinasa dependiente de DNA (DNA-PK)**, que tiene un sitio de unión para extremos libres de DNA y otro para dsDNA justo dentro de estos extremos. Por consiguiente, permite la aproximación de los dos extremos separados. El complejo de extremo libre de DNA-Ku-DNA-PK pone en marcha la actividad de cinasa en esta última. La DNA-PK fosforila de modo recíproco a Ku y la otra molécula de DNA-PK, en la cadena opuesta, en trans. A continuación, el DNA-PK se disocia desde el DNA y Ku, lo que ocasiona la activación de la Ku helicasa; esto da por resultado el desenrollado de los dos extremos. El DNA desenrollado, aproximado, forma pares de bases; una exonucleasa elimina las colas de nucleótido extra, y las brechas se llenan y se cierran mediante DNA ligasa. Este mecanismo de reparación se ilustra en la figura 35-25.

Algunas enzimas de reparación son multifuncionales

La observación reciente de que las proteínas de reparación de DNA pueden servir para otros propósitos es un poco sorprendente. Por ejemplo, algunas enzimas de reparación también se encuentran como componentes del complejo TFIIH grande que desempeña una función fundamental en la transcripción de gen (cap. 36). Otro componente del TFIIH participa en la regulación del ciclo celular.

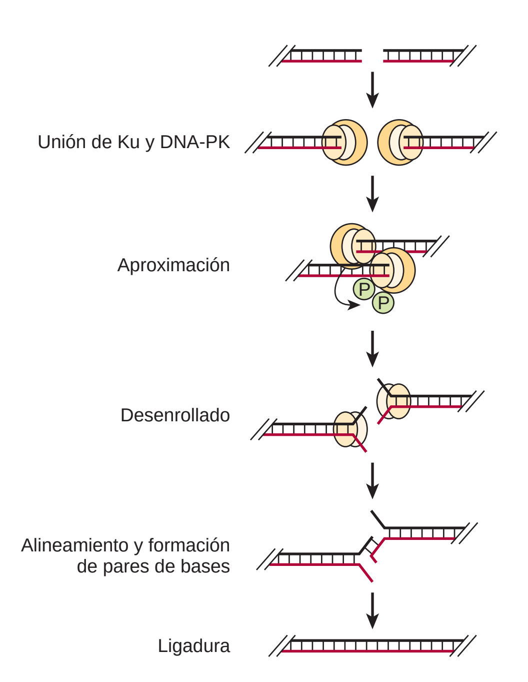


FIGURA 35-25 Reparación de rotura de doble cadena de DNA. Las proteínas Ku y proteína cinasa dependiente de DNA se combinan para aproximar las dos cadenas y desenrollarlas. Los fragmentos alineados forman pares de bases; los extremos extra se eliminan, probablemente mediante una endonucleasa o exonucleasa vinculada con DNA-PK, se rellenan las brechas, y la continuidad se restituye por medio de ligadura.

De esta manera, tres procesos celulares cruciales pueden estar enlazados por medio del uso de proteínas comunes. Asimismo, hay buena evidencia de que algunas enzimas de reparación participan en rearreglos génicos que se producen normalmente.

En seres humanos con **ataxia-telangiectasia**, enfermedad autosómica recesiva que da por resultado la aparición de ataxia cerebelosa y neoplasias linforreticulares, parece haber sensibilidad aumentada a daño por rayos X. Los pacientes con **anemia de Fanconi**, una anemia autosómica recesiva que también se caracteriza por frecuencia incrementada de cáncer y por inestabilidad cromosómica, probablemente tienen reparación defectuosa de daño por entrecruzamiento.

Estos tres síndromes clínicos muestran vínculo con frecuencia aumentada de cáncer. Es probable que en el futuro se encuentren otras enfermedades de seres humanos que se originan por trastornos de las capacidades de reparación de DNA.

La integridad del DNA y de cromosomas se monitorea de principio a fin del ciclo celular

Dada la importancia de la función normal del DNA y de los cromosomas para la supervivencia, no sorprende que las células eucarióticas hayan creado mecanismos complejos para monitorear la integridad del material genético. Como se detalló, varios sistemas de enzimas de múltiples subunidades, complejos, han aparecido por evolución para reparar DNA dañado en el ámbito de secuencia de nucleótido. De modo similar, los percances de DNA en el ámbito de cromosoma también se monitorean y reparan. La integridad tanto del DNA como de los cromosomas se monitorea de manera continua durante todo el ciclo celular (fig. 35-20). Los cuatro pasos específicos en los cuales ocurre este monitoreo se han llamado **puntos de control**. Si se detectan problemas en alguno de estos puntos, la progresión por el ciclo se interrumpe, y el tránsito por el ciclo celular se suspende en tanto no se repara el daño. Los mecanismos moleculares que fundamentan la detección del daño de DNA en el transcurso de las fases G1 y G2 del ciclo se entienden mejor que los que operan durante las fases S y M.

El **supresor tumoral p53**, una proteína de peso molecular (MW) de 53 kDa, desempeña una función clave en el manejo de puntos de control tanto durante G1 como durante G2. La proteína p53, que en circunstancias normales es muy inestable, es un factor de transcripción de unión a DNA, uno de una familia de proteínas relacionadas, que de algún modo se estabiliza en respuesta a daño del DNA, quizá por interacciones directas entre p53 y DNA. Las concentraciones incrementadas de p53 activan la transcripción de un montaje de genes que sirven en conjunto para retrasar el tránsito por el ciclo. Una de estas proteínas inducidas, $p21^{CIP}$, es un potente inhibidor de la CDK-ciclina (CKI) que tiene la capacidad para inhibir con eficiencia la acción de todas las CDK. Está claro que la inhibición de las CDK suspenderá la progresión por el ciclo celular (figs. 35-19 y 35-20). Si el daño del DNA es demasiado extenso como para que se repare, las células afectadas sufren **apoptosis** (muerte celular programada) de una manera dependiente de p53. En este caso, p53 induce la activación de un conjunto de genes que inducen a apoptosis. Las células que carecen de p53 funcional no pasan por apoptosis en respuesta a cifras altas de radiación o de quimioterápicos activos en el DNA. Entonces, tal vez no sorprende que *p53* sea uno de los genes mutados con mayor frecuencia en cánceres

de seres humanos. La investigación adicional sobre los mecanismos de manejo de punto de control resultará inestimable para la creación de opciones terapéuticas eficaces contra el cáncer.

RESUMEN

- El DNA en células eucarióticas se relaciona con diversas proteínas, lo que produce una estructura denominada cromatina.
- Gran parte del DNA se asocia con proteínas histona para formar una estructura llamada el nucleosoma, que consta de un octámero de histonas alrededor del cual se envuelven alrededor de 150 bp de DNA.
- Las histonas están sujetas a una gama extensa de modificaciones covalentes dinámicas que tienen importantes consecuencias reguladoras.
- Los nucleosomas y las estructuras de orden superior formadas a partir de ellos sirven para compactar el DNA.
- El DNA en regiones activas desde el punto de vista transcripcional es sensible al ataque por nucleasa; algunas regiones son excepcionalmente sensibles y a menudo se encuentra que contienen sitios de control de transcripción.
- El DNA muy activo en el aspecto transcripcional (los genes) suele estar agrupado en regiones de cada cromosoma. Dentro de estas regiones, los genes pueden estar separados por DNA inactivo en estructuras nucleosómicas. En eucariotas la unidad de transcripción —la parte de un gen que es copiada por la RNA polimerasa— a menudo consta de regiones de DNA codificadoras (exones) interrumpidas por secuencias intermedias de DNA no codificador (intrones).
- Después de la transcripción, durante el procesamiento del RNA, los intrones se eliminan, y los exones se ligan entre sí para formar el mRNA maduro que aparece en el citoplasma; este proceso se denomina empalme del RNA.
- El DNA en cada cromosoma se replica exactamente de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases en el transcurso de la fase S del ciclo celular.
- Cada cadena de la doble hélice se replica de modo simultáneo pero mediante mecanismos un poco diferentes. Un complejo de proteínas, incluso la DNA polimerasa, replica la cadena líder de manera continua en la dirección 5′ a 3′. La cadena retrasada se replica de modo discontinuo, en fragmentos cortos de 150 a 250 nucleótidos, en la dirección 3′ a 5′.
- La replicación del DNA sucede en varios sitios —llamados burbujas de replicación— en cada cromosoma. Todo el proceso tarda alrededor de 9 h en una célula típica, y únicamente ocurre durante la fase S del ciclo celular.
- Diversos mecanismos de los que se emplean diferentes enzimas reparan el DNA dañado, como luego de exposición a mutágenos químicos o radiación ultravioleta.

REFERENCIAS

Boutros R et al: CDC25 phosphatases in cancer cells: key players? Good targets? Nat Rev Cancer 2007;7:495.

Dalal Y et al: Structure, dynamics, and evolution of centromeric nucleosomes. Proc Nat Academy of Sciences 2007;104:41.

Encode Consortium: Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. Nature 2007;447:799.

Gilbert DM: In search of the holy replicator. Nature Rev Mol Cell Biol 2004;5:848.

Hillenmeyer ME et al: The chemical genomic portrait of yeast: uncovering a phenotype for all genes. Science 2008;320:362.

Johnson A, O′Donnell M: Cellular DNA replicases: components and dynamics at the replication fork. Ann Rev Biochemistry 2005;74:283.

Krishman KJ et al: What causes mitochondrial DNA deletions in human cells? Nat Genet 2008;40:275.

Lander ES et al: Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 2001;409:860.

Luger K et al: Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. Nature 1997;389:251.

McCulloch SD, Kunkel TA: The fidelity of DNA synthesis by eukaryotic replicative and translesion synthesis polymerases. Cell Res 2008;18:148.

Michelson RJ, Weinart T: Closing the gaps among a web of DNA repair disorders. Bioessays J 2002;22:966.

Misteli T: Beyond the sequence: cellular organization of genome function. Cell 2007;128:787.

Orr HT, Zoghbi, HY: Trinucleotide repeat disorders. Annu Rev Neurosci 2007;30:375.

Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kacmaz K, Linn S: Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoint. Ann Rev Biochem 2004;73:39.

Sullivan et al: Determining centromere identity: cyclical stories and forking paths. Nat Rev Genet 2001;2:584.

Venter JC et al: The sequence of the human genome. Science 2002;291:1304.

Zilberman D, Henikoff S: Genome wide analysis of DNA methylation patterns. Development 2007;134:3959.

C A P Í T U L O

36

Síntesis, procesamiento y modificación del RNA

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La síntesis de una molécula de RNA a partir de DNA es un proceso complejo que incluye una enzima del grupo de RNA polimerasas, y diversas proteínas relacionadas. Los pasos generales requeridos para sintetizar la transcripción primaria son inicio, alargamiento y terminación; se sabe más acerca del inicio. Han sido identificadas varias regiones de DNA (por lo general localizadas corriente arriba desde el sitio de inicio) y factores proteínicos que se unen a estas secuencias para regular el comienzo de la transcripción. Ciertos RNA —en especial el RNA mensajero (mRNA)— tienen lapsos de vida muy diferentes en una célula. Es importante entender los principios básicos de la síntesis y el metabolismo del mRNA, porque la modulación de este proceso da por resultado índices alterados de síntesis de proteína y, así, diversos cambios tanto metabólicos como fenotípicos. De este modo, todos los organismos se adaptan a cambios del ambiente. También de esta manera se establecen y mantienen las estructuras y funciones celulares diferenciadas. Las moléculas de RNA que se sintetizan en células de mamífero lo hacen como moléculas precursoras que tienen que procesarse hacia RNA maduro, activo. Los errores o cambios de la síntesis, el procesamiento, la edición, estabilidad o función de los transcritos de mRNA causan enfermedades.

EL RNA EXISTE EN CUATRO CLASES PRINCIPALES

Todas las células eucarióticas tienen cuatro clases principales de RNA: RNA ribosómico (rRNA), RNA mensajero (mRNA), RNA de transferencia (tRNA), y RNA pequeños, los RNA nucleares pequeños *(small nuclear)* y micro-RNA (snRNA y miRNA). Los tres primeros participan en la síntesis de proteína, mientras que los RNA pequeños lo hacen en la edición del mRNA y la modulación de la expresión de gen al alterar la función del mRNA. Estas diversas clases de RNA son diferentes en su diversidad, estabilidad y abundancia en las células (cuadro 36-1).

EL RNA SE SINTETIZA A PARTIR DE UNA PLANTILLA DE DNA POR UNA RNA POLIMERASA

Los procesos de síntesis de DNA y RNA son similares por cuanto comprenden: 1) los pasos generales del inicio, alargamiento y terminación con polaridad 5′ a 3′; 2) grandes complejos de inicio de múltiples componentes, y 3) apego a las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick. Sin embargo, la síntesis de DNA y RNA difiere en varios aspectos importantes, entre ellos: 1) en la síntesis de RNA se usan ribonucleótidos en lugar de desoxiribonucleótidos; 2) la U remplaza a la T como la base complementaria para A en el RNA; 3) la síntesis de RNA no incluye un iniciador, dado que las RNA polimerasas tienen la capacidad para iniciar la síntesis *de novo;* 4) sólo porciones del genoma se transcriben o copian de modo vigoroso hacia el RNA, mientras que todo el genoma debe copiarse, una vez y sólo una vez, durante la replicación del DNA, y 5) no hay una función de corrección de pruebas eficiente, muy activa, en el transcurso de la transcripción del RNA.

El proceso de la síntesis de RNA a partir de una plantilla de DNA se ha caracterizado mejor en procariotas. Aun cuando en células de mamífero la regulación de la síntesis de RNA y el procesamiento de las transcripciones de RNA son diferentes de los que ocurren en procariotas, el proceso de síntesis de RNA en sí es bastante similar en estas dos clases de organismos. En consecuencia, la descripción de las síntesis de RNA en procariotas, en los cuales se entiende mejor, es aplicable a eucariotas aun cuando las enzimas comprendidas y las señales reguladoras, aunque vinculadas, son diferentes.

La cadena plantilla de DNA se transcribe

La secuencia de ribonucleótidos en una molécula de RNA es complementaria a la secuencia de desoxirribonucleótidos en una cadena de la molécula de DNA bicatenaria (fig. 34-8). La cadena que se transcribe o copia hacia una molécula de RNA se denomina la **cadena plantilla** del DNA: la otra cadena del DNA, la **cadena no plantilla**, suele llamarse la **cadena codificadora** de ese gen. Se denomina así porque, con la excepción de cambios de T por U, corresponde con precisión a la secuencia de la transcripción primaria de RNA, que codifica para el producto (proteína) del gen. En el caso de una molécula de DNA bicatenaria que contiene muchos genes, la cadena plantilla para cada gen no será necesariamente la misma cadena de la doble hélice de DNA (fig. 36-1). De esta manera, una cadena dada de una molécula de DNA bicatenario servirá como la cadena plantilla para algunos genes y como la cadena codificadora para otros genes. Nótese que la secuencia de nucleótidos de una transcripción de RNA será la misma (excepto por U que remplaza a T) que la de la cadena codificadora. La información en la cadena plantilla se lee en la dirección 3′ a 5′. Aun cuando no se muestra en la figura 36-1, hay casos de genes embebidos dentro de otros genes.

CUADRO 36-1 Clases de RNA eucariótico

RNA	Tipos	Abundancia	Estabilidad
Ribosómico (rRNA)	28S, 18S, 5.8S, 5S	80% del total	Muy estable
Mensajero (mRNA)	~10^5 especies diferentes	2 a 5% del total	Inestable a muy estable
De transferencia (tRNA)	~60 especies diferentes	~15% del total	Muy estable
RNA pequeños			
Nuclear pequeño (snRNA)	~30 especies diferentes	≤ 1% del total	Muy estable
Micro (miRNA)	100s–1 000	< 1% del total	Estable

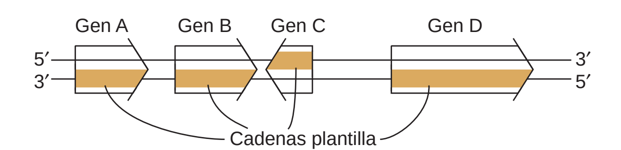


FIGURA 36-1 Esta figura ilustra que los genes pueden transcribirse a partir de ambas cadenas de DNA. Las puntas de flecha indican la dirección de la transcripción (polaridad). Note que la cadena plantilla siempre se lee en la dirección 3' a 5'. La cadena opuesta se llama la cadena codificadora porque es idéntica (salvo por cambios de T por U) a la transcripción de mRNA (la transcripción primaria en células eucarióticas) que codifica para el producto proteínico del gen.

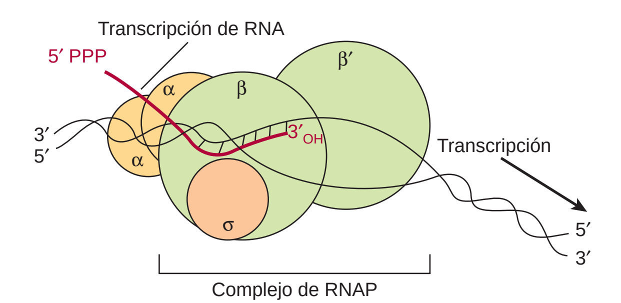


FIGURA 36-2 La RNA polimerasa (RNAP) cataliza la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia de RNA que es complementaria a la cadena plantilla del gen. El RNA transcrito tiene la misma polaridad (5' a 3') que la cadena codificadora, pero contiene U en lugar de T. La RNAP de *E. coli* consta de un complejo central de dos subunidades alfa y dos subunidades β (β y β'). La holoenzima contiene la subunidad σ unida al montaje central $\alpha_2\beta\beta'$. La subunidad ω no se muestra. La "burbuja" de transcripción es un área de aproximadamente 20 bp de DNA fusionado, y todo el complejo cubre 30 a 75 bp, dependiendo de la conformación de la RNAP.

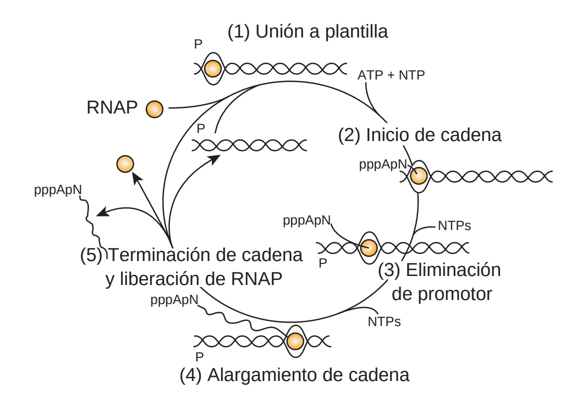


FIGURA 36-3 El ciclo de transcripción en bacterias. La transcripción de RNA bacteriano se describe en cuatro pasos: **1) Unión a la plantilla:** la RNA polimerasa (RNAP) se une al DNA y localiza un promotor (P), que fusiona las dos cadenas de DNA para formar un complejo de preinicio (PIC). **2) Inicio de cadena:** la holoenzima RNAP (centro + uno de múltiples factores σ) cataliza el acoplamiento de la primera base (por lo general ATP o GTP) a un segundo ribonucleósido trifosfato para formar un dinucleótido. **3) Eliminación de promotor:** la RNAP pasa por un cambio conformacional luego de que la longitud de la cadena de RNA alcanza 10 a 20 nt, y después puede alejarse del promotor, transcribiendo hacia abajo la unidad de transcripción. **4) Alargamiento de cadena:** residuos sucesivos se añaden al 3'-OH terminal de la molécula del RNA naciente. **5) Terminación de cadena y liberación de la RNAP:** la cadena de RNA completada y la RNAP se liberan de la plantilla. Se vuelve a formar la holoenzima RNAP, encuentra un promotor, y el ciclo se repite.

La RNA polimerasa dependiente de DNA inicia la transcripción de un sitio distinto, el promotor

La RNA polimerasa dependiente de DNA es la enzima que se encarga de la polimerización de ribonucleótidos hacia una secuencia complementaria a la cadena plantilla del gen (figs. 36-2 y 36-3). La enzima se fija a un sitio específico —el promotor— sobre la cadena plantilla. Esto va seguido por comienzo de la síntesis de RNA en el punto de inicio, y el proceso continúa en tanto no se llega a una secuencia de terminación (fig. 36-3). Una **unidad de transcripción** se define como la región del DNA que incluye las señales para el inicio, el alargamiento y la terminación de la transcripción. El producto RNA, que se sintetiza en la dirección 5′ a 3′, es el **transcrito primario**. Los índices de transcripción varían de un gen a otro, pero pueden ser bastante altos. En la figura 36-4 se presenta una micrografía electrónica de transcripción en acción. En procariotas, esto puede representar el producto de varios genes contiguos; en células de mamífero, regularmente representa el producto de un gen único. Si una unidad de transcripción sólo contiene un gen único, en 5′ finaliza el transcrito del RNA primario y el RNA citoplásmico maduro son idénticos. De este modo, **el punto inicial de transcripción corresponde al nucleótido 5′ del mRNA**. Esto se designa posición +1, al igual que el nucleótido correspondiente en el DNA. Los números aumentan conforme la secuencia procede *corriente abajo* desde el sitio de inicio. Esta convención facilita localizar regiones particulares, como fronteras de intrón y exón. El nucleótido en el promotor adyacente al sitio de inicio de la transcripción en la dirección torrente arriba se designa −1, y estos números negativos se incrementan a medida que la secuencia procede *torrente arriba*, alejándose del sitio de inicio. Esto proporciona una manera convencional de definir la ubicación de elementos reguladores en el promotor.

Los transcritos primarios generados por la RNA polimerasa II —una de las tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en eucariotas— quedan cubiertas con el capuchón con

7-metilguanosina trifosfato (fig. 34-10), recubrimientos que persisten y a la postre aparecen sobre el extremo 5′ de mRNA citoplásmico maduro. Estas cubiertas se requieren para el procesamiento subsiguiente de la transcripción primaria hacia mRNA, para la traducción del mRNA, y para la protección de mRNA contra ataque exonucleolítico.

La RNA polimerasa dependiente de DNA bacteriano es una enzima de múltiples subunidades

La RNA polimerasa dependiente de DNA (RNAP) de la bacteria *Escherichia coli* existe como un complejo central de alrededor de 400 kDa, que consta de dos subunidades α idénticas, similares a las subunidades β y β′, y una subunidad ω. La subunidad β se une a iones de Mg^{2+}, y compone la subunidad catalítica (fig. 36-2). El centro de la RNA polimerasa, $\beta\beta'\alpha_2\omega$, a menudo llamada E, se asocia con un factor proteínico específico (el factor sigma [σ]) para formar la holoenzima, $\beta\beta'\alpha_2\omega\sigma$, o Eσ. La subunidad σ ayuda al centro de la enzima a reconocer y unirse a la secuencia de desoxinucleótido específica de la región promotora (fig. 36-5) para formar el **complejo de preinicio (PIC)**. En todas las especies bacterianas hay múltiples genes distintos que codifican para el factor σ. Los factores σ tienen una función doble en el proceso de reconocimiento de promotor; la asociación σ con la RNA polimerasa central disminuye su afinidad por cierto DNA no promotor, mientras que al mismo tiempo aumenta la afinidad de la holoenzima por el DNA promotor. Los múltiples factores σ, cada uno de los cuales actúa como una proteína reguladora que modifica la **especificidad de reconocimiento del promotor** de la holoenzima RNA polimerasa única resultante (es decir, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,…). La aparición de diferentes factores σ y su relación con el centro de la RNAP que forma nuevas formas de holoenzima, puede correlacionarse temporalmente con diversos programas de expresión de gen en sistemas procarióticos, como esporulación, crecimiento en diversas fuentes con poco contenido de nutriente, y la respuesta a choque por calor.

Las células de mamífero poseen tres RNA polimerasas nucleares distintas dependientes de DNA

En el cuadro 36-2 se describen las propiedades de las polimerasas de mamífero. Cada una de estas RNA polimerasas dependientes de DNA se encarga de la transcripción de diferentes grupos de genes. El tamaño de las RNA polimerasas varía desde MW de 500 000 hasta 600 000. Estas enzimas muestran perfiles de subunidades más complejos que las RNA polimerasas procarióticas. Todas tienen dos subunidades grandes, y varias subunidades de menor tamaño —hasta 14 en el caso de la RNA pol III—. Empero, las subunidades de la RNA polimerasa eucariótica muestran extensas homologías de aminoácido con RNA polimerasas procarióticas. Recientemente se ha mostrado que esta homología se extiende hasta el nivel de estructuras tridimensionales. Aún no se entienden por completo las funciones de cada una de las subunidades.

Una toxina peptídica del hongo *Amanita phalloides*, α-amanitina, es un inhibidor diferencial específico de las RNA polimerasas nucleares dependientes de DNA eucarióticas y, como tal, ha resultado ser un potente instrumento de investigación (cuadro 36-2). La α-amanitina bloquea la translocación de la RNA polimerasa durante la formación de enlace fosfodiéster.

CUADRO 36-2 Nomenclatura y propiedades de RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares de mamífero

Forma de RNA polimerasa	Sensibilidad a la α-amanitina	Productos importantes
I	Insensible	rRNA
II	Sensibilidad alta	mRNA, miRNA, SnRNA
III	Sensibilidad intermedia	tRNA, rRNA 5s

LA SÍNTESIS DE RNA ES UN PROCESO CÍCLICO, Y COMPRENDE INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN DE CADENA DE RNA

El proceso de síntesis de RNA en bacterias (fig. 36-3) involucra primero la unión de la molécula de holoenzima RNA polimerasa a la plantilla en el sitio promotor para formar un **complejo de preinicio**, o **PIC**. La unión va seguida por un cambio conformacional de la RNAP y desenrollamiento del DNA alrededor del sitio de inicio de la transcripción, y a continuación el primer nucleótido (casi siempre una purina) se asocia con el sitio de unión a nucleótido en la subunidad β de la enzima. En presencia del siguiente nucleótido apropiado unido a la polimerasa, la RNAP cataliza la formación de un enlace fosfodiéster, y la cadena naciente ahora se fija al sitio de polimerización sobre la subunidad β de la RNAP. (Debe notarse la analogía con los sitios A y P en el ribosoma; fig. 37-9.)

A continuación sigue el **inicio** de la formación de la molécula de RNA en su extremo 5′, mientras que el alargamiento de la molécula de RNA desde el extremo 5′ hacia su extremo 3′ continúa de modo cíclico, antiparalelo a su plantilla. La enzima polimeriza los ribonucleótidos en la secuencia específica dictada por la cadena plantilla, y se interpreta por medio de las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson-Crick. Después de cada ciclo de polimerización se libera pirofosfato. Al igual que para la síntesis de DNA, este pirofosfato (PP_i) se degrada con rapidez hacia 2 mol de fosfato inorgánico (P_i) mediante pirofosfatasas omnipresentes, lo que proporciona irreversibilidad sobre la reacción sintética general. Tanto en procariotas como en eucariotas, un ribonucleótido purina por lo general es el primero que se polimeriza hacia la molécula de RNA. Al igual que con los eucariotas, el 5′ trifosfato del primer nucleótido iniciador se mantiene en el mRNA procariótico. Luego de que se han polimerizado 10 a 20 nucleótidos, la RNAP pasa por un segundo cambio conformacional que conduce a **eliminación del promotor**. Una vez que sucede esta transición, la RNAP se aleja físicamente del promotor, y transcribe la unidad de transcripción, lo que da pie a la siguiente fase del proceso, el alargamiento. Este hecho, el de permanecer en el promotor, "encerrado", o transición hacia alargamiento, parece ser un importante paso regulador en la transcripción de pol II eucariótica.

Conforme el complejo de **alargamiento** contenido en el centro de la RNA polimerasa progresa a lo largo de la molécula de DNA,

debe ocurrir **desenrollamiento de DNA** con el fin de proporcionar acceso para la formación de par de base apropiada para los nucleótidos de la cadena codificadora. La extensión de esta burbuja de transcripción (esto es, desenrollamiento de DNA) es constante de principio a fin de la transcripción, y se ha estimado que es de aproximadamente 20 pares de bases por cada molécula de polimerasa. Así, parece ser que el tamaño de la región de DNA desenrollado está dictado por la polimerasa y es independiente de la secuencia de DNA en el complejo. La RNA polimerasa tiene una actividad intrínseca de "desenrollasa" que abre la hélice de DNA. El hecho de que la doble hélice de DNA deba desenrollarse, y las cadenas separarse al menos de manera transitoria para la transcripción, implica alguna alteración de la estructura del nucleosoma de células eucarióticas. La topoisomerasa precede y sigue a la RNAP que está progresando, a fin de evitar la formación de tensiones de superhélice que servirían para incrementar la energía necesaria para desenrollar el DNA plantilla adelante de la RNAP.

La **terminación** de la síntesis de la molécula de RNA en bacterias está señalada por una secuencia en la cadena plantilla de la molécula de DNA, una señal que es reconocida por una **proteína de terminación**, el **factor rho (ρ)**. Rho es una helicasa estimulada por RNA dependiente de ATP que altera el complejo de RNA-DNA naciente. En algunos casos la RNAP bacteriana puede reconocer de modo directo señales de terminación codificadas por DNA sin la ayuda del factor rho. Después de la terminación de la síntesis del RNA, la enzima se separa de la plantilla de DNA y probablemente se disocia para liberar el centro de la enzima y el factor. Con la ayuda de otro factor σ, a continuación la enzima central reconoce un promotor en el cual comienza la síntesis de una nueva molécula de RNA. En células eucarióticas no se ha conseguido una comprensión plena de la terminación, pero las proteínas de procesamiento, terminación y poliadenilación de RNA parecen cargarse sobre la RNAP II poco después del inicio (véase más adelante). Más de una molécula de RNA polimerasa puede transcribir de manera simultánea la misma cadena plantilla de un gen, pero el proceso está modulado por fases y espaciado de modo que en cualquier momento cada una está transcribiendo una parte diferente de la secuencia de DNA (figs. 36-1 y 36-4).

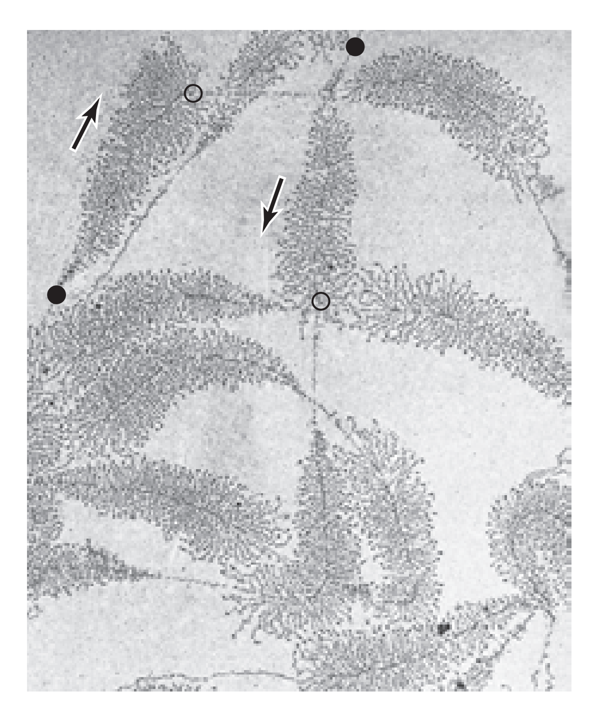


FIGURA 36-4 Fotomicrografía electrónica de múltiples copias de genes de RNA ribosómico de anfibio en el proceso de ser transcritos. El aumento es de alrededor de 6 000×. Nótese que la longitud de las transcripciones se incrementa conforme las moléculas de RNA polimerasa progresan a lo largo de los genes que codifican para RNA ribosómico individuales desde sitios de inicio de transcripción (círculos negros) hasta sitios de terminación de la transcripción (circunferencias). La RNA polimerasa I (que no se visualiza aquí) está en la base de las transcripciones de RNA naciente. De este modo, el extremo proximal del gen transcrito tiene transcripciones cortas fijas a él, mientras que transcripciones de mucho mayor tamaño están fijas al extremo distal del gen. Las flechas indican la dirección (5' a 3') de la transcripción. (Reproducida, con autorización, de Miller OL Jr, Beatty BR: Portrait of a gene. J Cell Physiol 1969;74[Suppl 1]:225. Copyright © 1969. Reimpresa con autorización de Wiley-Liss, Inc., una subsidiaria de John Wiley & Sons, Inc.)

PROTEÍNAS UNIDAS A CIERTAS SECUENCIAS DE DNA CONTROLAN LA FIDELIDAD Y FRECUENCIA DE LA TRANSCRIPCIÓN

El análisis de la secuencia de DNA de genes específicos ha permitido el reconocimiento de varias secuencias importantes en la transcripción de gen. A partir del gran número de genes bacterianos estudiados es posible construir modelos de consenso de señales de inicio y terminación de transcripción.

La pregunta "¿de qué manera la RNAP encuentra el sitio correcto para iniciar la transcripción?" no es trivial cuando se considera la complejidad del genoma. *E. coli* tiene 4×10^3 sitios de inicio de transcripción (o sea, promotores de gen) en 4.2×10^6 pares de base (bp) de DNA. La situación es aún más compleja en seres humanos, en los cuales hasta 10^5 sitios de inicio de transcripción están distribuidos en 3×10^9 bp de DNA. La RNAP puede unirse, con baja afinidad, a muchas regiones de DNA, pero escanea la secuencia de DNA —a un índice de $\geq 10^3$ bp/s— en tanto no reconoce ciertas regiones específicas del DNA a las cuales se une con mayor afinidad. Estas regiones se denominan promotores, y es la asociación de RNAP con promotores lo que asegura el inicio exacto de la transcripción. El proceso de reconocimiento-utilización de promotor es el blanco para regulación tanto en bacterias como en seres humanos.

Los promotores bacterianos son relativamente simples

Los promotores bacterianos tienen alrededor de 40 nucleótidos (40 bp o cuatro vueltas de la doble hélice de DNA) de largo, una región suficientemente pequeña como para que sea cubierta por una molécula de RNA holopolimerasa de *E. coli*. En un promotor de consenso hay dos elementos de secuencia cortos, conservados. Aproximadamente 35 bp corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción hay una secuencia de consenso de ocho pares de nucleótidos (consenso: 5′-TGTTGACA-3′) a los cuales el RNAP se une para formar el llamado **complejo cerrado**. Más proximal al sitio de inicio de la transcripción —alrededor de 10 nucleótidos corriente arriba— hay una secuencia rica en A + T de seis pares de nucleótidos (consenso: 5′-TATAAT-3′). Juntos, estos elementos

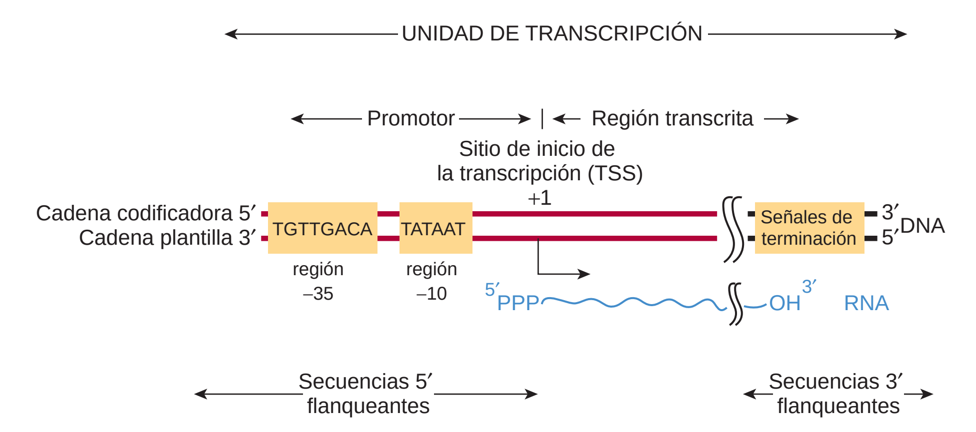


FIGURA 36-5 Los promotores bacterianos, como los de *E. coli* mostrados aquí, comparten dos regiones de secuencia de nucleótido muy conservadas. Estas regiones están localizadas 35 y 10 bp torrente arriba (en la dirección 5' de la cadena codificadora) desde el sitio de inicio de la transcripción, que se indica como +1. Por convención, todos los nucleótidos torrente arriba del sitio de inicio de la transcripción (en +1) se enumeran en sentido negativo, y se denominan secuencias 5' flanqueantes. También por convención, los elementos de secuencia reguladora de DNA (secuencia TATA, etc.) se describen en la dirección 5' a 3' y como situados en la cadena codificadora. No obstante, estos elementos sólo funcionan en el DNA bicatenario. Nótese que la transcripción producida a partir de esta unidad de transcripción tiene la misma polaridad o "sentido" (esto es, orientación 5' a 3') que la cadena codificadora. Los elementos *cis* de terminación residen en el extremo de la unidad de transcripción (véanse más detalles en la fig. 36-6). Por convención, las secuencias torrente abajo del sitio en el cual sucede la terminación de transcripción se llaman secuencias 3'-flanqueadoras.

de secuencia conservados comprenden el promotor, y se muestran de modo esquemático en la figura 36-5. Esta última secuencia tiene una temperatura de fusión baja debido a su carencia de pares de nucleótido GC. De esta manera, se cree que la denominada **secuencia (o "caja") TATA** facilita la disociación de las dos cadenas de DNA de modo que la RNA polimerasa unida a la región promotora puede tener acceso a la secuencia de nucleótidos de su cadena plantilla inmediatamente corriente abajo. Una vez que sucede este proceso, la combinación de RNA polimerasa más promotor se llama el **complejo abierto**. Otras bacterias tienen secuencias de consenso un poco diferentes en sus promotores, pero en general todas tienen dos componentes para el promotor; éstos tienden a estar en la misma posición respecto al sitio de inicio de la transcripción, y en todos los casos las secuencias entre los dos elementos promotores no tienen similitud pero todavía **proporcionan funciones de espaciamiento cruciales** que facilitan el reconocimiento de −35 y −10 nucleótidos de la secuencia para la holoenzima RNA polimerasa. Dentro de una célula bacteriana, diferentes grupos de genes suelen estar regulados de manera coordinada. Un modo importante en que se logra esto es por medio del hecho de que estos genes corregulados comparten secuencias promotoras −35 y −10 particulares. Estos promotores singulares son reconocidos por diferentes factores σ unidos al centro de la RNA polimerasa (esto es, $E\sigma_1$, $E\sigma_2$,…).

Las **señales de terminación** de transcripción dependientes de rho en *E. coli* también parecen tener una secuencia de consenso separada (fig. 36-6). Puede observarse que la secuencia de consenso conservada, que cuenta con unos 40 pares de nucleótidos de longitud, contiene una repetición invertida dividida en secciones o interrumpida, seguida por una serie de pares de bases AT. A medida que la transcripción procede por dicha repetición, la transcripción que se genera puede formar la estructura de la horquilla intramolecular que también se describe en la figura 36-6.

La transcripción continúa hacia la región AT, y con la ayuda de la proteína de terminación ρ la RNA polimerasa se detiene, se disocia de la plantilla de DNA y libera el transcrito naciente.

Los promotores eucarióticos son más complejos

Está claro que las señales en el DNA que controlan la transcripción en células eucarióticas son de varios tipos. Dos tipos de elementos de secuencia son proximales a promotor. Uno de éstos define **dónde va a comenzar la transcripción** a lo largo del DNA, y el otro contribuye a los mecanismos que controlan la **frecuencia con la cual** va a ocurrir este evento. Por ejemplo, en el gen que codifica para la timidina cinasa del virus del herpes simple, que utiliza factores de transcripción de su huésped mamífero para su programa de expresión de gen temprana, hay un solo sitio de inicio de transcripción único, y la transcripción adecuada a partir de este sitio depende de una secuencia de nucleótido localizada 32 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de inicio (o sea, en −32) (fig. 36-7). Esta región tiene la secuencia de **TATAAAAG** y una notoria similitud con la **secuencia TATA** vinculada desde el punto de vista funcional que está localizada alrededor de 10 bp torrente arriba desde el sitio de inicio de mRNA procariótico (fig. 36-5). La mutación o desactivación de la secuencia TATA reduce de manera notoria la transcripción de este y de muchos otros genes que contienen este elemento ***cis*-activo** de consenso (figs. 36-7 y 36-8). La secuencia TATA generalmente está localizada 25 a 30 bp torrente arriba desde el sitio de inicio de la transcripción en genes de mamífero que la contienen. La secuencia de consenso para una secuencia TATA es TATAAA, aunque se han caracterizado muchas variaciones. La secuencia TATA humana es unida por la **proteína de unión a TATA (TBP)** de 34 kDa, que es una subunidad en por lo menos dos complejos de múltiples subunidades, TFIID y

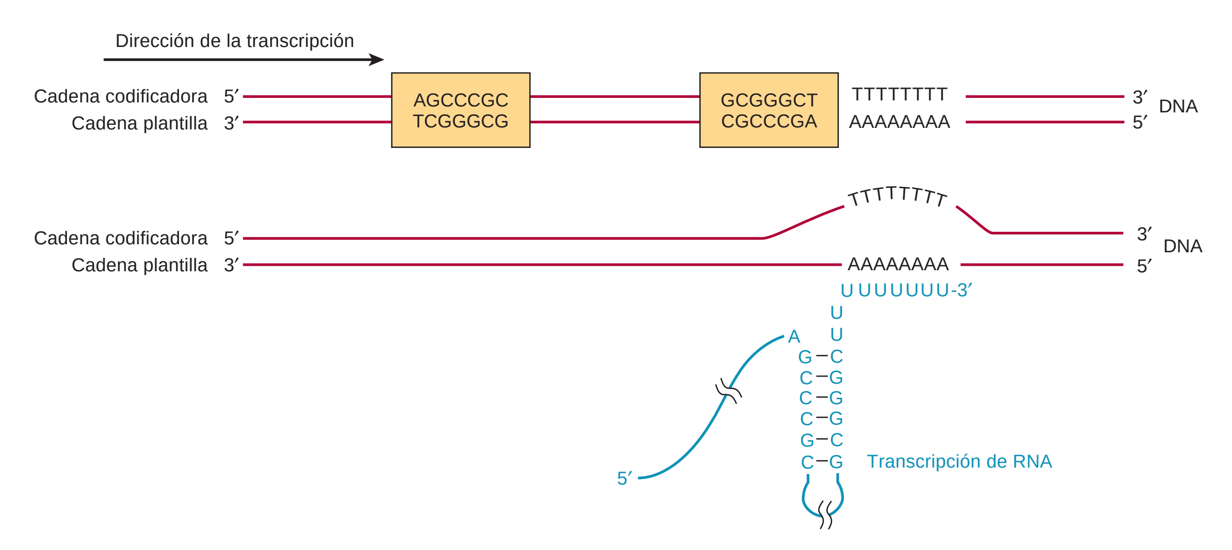


FIGURA 36-6 La señal de terminación de la transcripción bacteriana predominante contiene una repetición invertida, dividida en secciones (las dos áreas encerradas en un cuadro) seguidas por un tramo de pares de bases AT **(arriba)**. La repetición invertida, cuando se transcribe hacia RNA, puede generar la estructura secundaria en la transcripción de RNA **(abajo)**. La formación de esta horquilla de RNA hace que la RNA polimerasa haga una pausa y luego el factor de terminación ρ interactúa con la polimerasa pausada y de alguna manera induce la terminación de cadena.

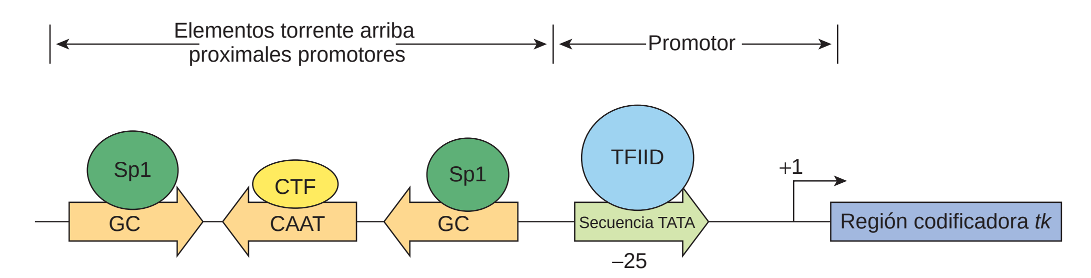


FIGURA 36-7 Elementos de transcripción y factores de unión en el gen que codifica para la timidina cinasa *(tk)* en el virus del herpes simple. La RNA polimerasa II dependiente de DNA (que no se muestra) se une a la región de la secuencia TATA (que es unida por el factor de transcripción TFIID) para formar un complejo de preinicio de múltiples componentes que tiene la capacidad de iniciar la transcripción en un nucleótido único (+1). La frecuencia de este evento es aumentada por la presencia de elementos de acción *cis* torrente arriba (las secuencias GC y CAAT) localizados cerca del promotor (promotor proximal) o lejos del mismo (elementos distales; fig. 36-8). Los elementos *cis* proximal y distal son unidos por factores de transcripción de acción *trans*, en este ejemplo Sp1 y CTF (también denominado C/EBP, NF1, NFY). Estos elementos *cis* pueden funcionar de manera independiente a la orientación **(flechas)**.

SAGA/P-CAF. Las subunidades no TBP de TFIID son proteínas denominadas **factores relacionados con TBP (TAF)**. Este complejo de TBP y TAF se llama TFIID. Se cree que la unión del complejo TFIID de TBP-TAF a la secuencia de caja TATA representa un primer paso en la formación del complejo de transcripción sobre el promotor.

Cierto número de genes que codifican para mRNA carecen de una secuencia TATA de consenso. En esas circunstancias, elementos *cis* adicionales, una **secuencia iniciadora (Inr)**, o el denominado elemento **promotor torrente abajo (DPE)**, o todos o una combinación de los anteriores, dirigen la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II hacia el promotor, y al hacerlo proporcionan transcripción basal que empieza desde el sitio correcto. El elemento Inr abarca el sitio de inicio (desde −3 hasta +5) y consta de la secuencia de consenso general TCA_{+1} G/T T T/C (A_{+1} indica el primer nucleótido transcrito). Las proteínas que se unen a Inr para dirigir la unión de pol II incluyen el TFIID. Los promotores que tienen tanto una secuencia TATA como una Inr pueden ser más fuertes o transcribirse de modo más vigoroso que los que únicamente tienen uno de estos elementos. El DPE tiene la secuencia de consenso A/GGA/T CGTG, y está localizado aproximadamente 25 bp torrente abajo del sitio de inicio +1. Al igual que la Inr, las secuencias de DPE también son unidas por las subunidades TAF de TFIID. En un estudio de más de 200 genes eucarióticos, a grandes rasgos 30% contuvo una secuencia TATA e Inr, 25% contuvo Inr y DPE, 15% contuvo los tres elementos, mientras que ~ 30% sólo contuvo la Inr.

Las secuencias por lo general justo torrente arriba del sitio de inicio determinan la frecuencia con la cual sucede un evento de transcripción. Las mutaciones en estas regiones aminoran 10 a 20 veces la frecuencia de inicios transcripcionales. Las secuencias GC y CAAT, así llamadas debido a las secuencias de DNA comprendidas, son típicas de estos elementos de DNA. Cada una de estas secuencias se une a una proteína específica, Sp1 en el caso de la secuencia GC, y CTF (o C/EBP,NF1,NFY) por la secuencia CAAT; ambas se

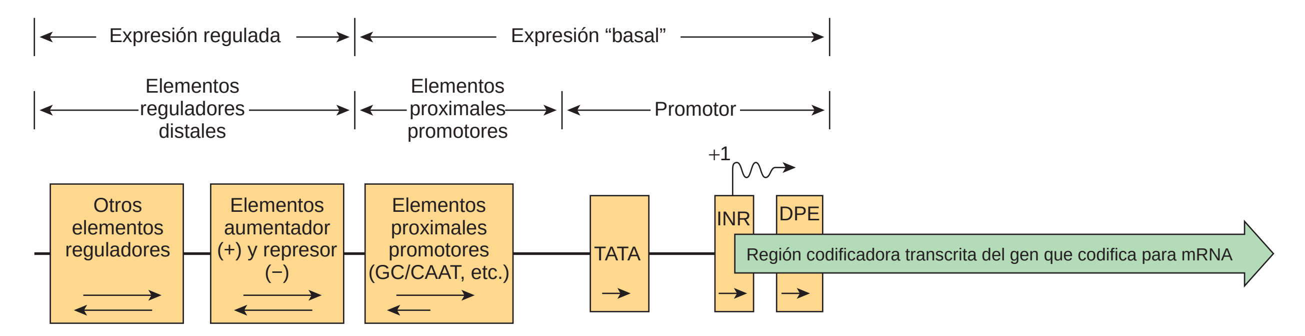


FIGURA 36-8 Diagrama que muestra las regiones de control de la transcripción en un gen eucariótico productor de mRNA hipotético transcrito por la RNA polimerasa II. Ese gen puede dividirse en sus regiones codificadora y reguladora, según se define por el sitio de inicio de la transcripción (**flecha**; +1). La región codificadora contiene la secuencia de DNA que se transcribe hacia mRNA, que finalmente se traduce hacia proteína. La región reguladora consta de dos clases de elementos. Una clase se encarga de asegurar expresión basal. El "promotor", compuesto de la secuencia TATA o de elementos Inr o DPE, dirige a la RNA polimerasa II hacia el sitio correcto (fidelidad). En promotores sin TATA, un elemento iniciador (Inr) que abarca el sitio de inicio (+1) puede dirigir a la polimerasa hacia este sitio. Otro componente, los elementos torrente arriba, especifica la frecuencia de inicio; esos elementos pueden ser proximales (50 a 200 bp) o distales (1 000 a 10^5 bp) al promotor, como se muestra. Entre los elementos proximales mejor estudiados está la secuencia CAAT, pero en diversos genes pueden usarse varios otros elementos (unidos por las proteínas transactivadoras Sp1, NF1, AP1, etc.). Los elementos distales incrementan la expresión o la reprimen; varios de estos elementos median la respuesta a diversas señales, entre ellas hormonas, choque por calor, metales pesados y sustancias químicas. La expresión específica para tejido también comprende secuencias específicas de esta clase. Las flechas dentro de las cajas indican la dependencia de todos los elementos de la orientación. Por ejemplo, el elemento proximal (la secuencia TATA) debe estar en la orientación 5' a 3'. Los elementos torrente arriba funcionan mejor en la orientación 5' a 3', pero algunos de ellos se pueden revertir. Las localizaciones de algunos elementos no están fijas en cuanto al sitio de inicio de la transcripción. En realidad, algunos elementos de los cuales depende la expresión regulada pueden estar localizados ya sea entremezclados con los elementos torrente arriba, o bien torrente abajo desde el sitio de inicio.

unen mediante sus **dominios de unión a DNA (DBD)** separados (fig. 36-7). La frecuencia de inicio de transcripción es una consecuencia de estas interacciones entre proteína y DNA, y de interacciones complejas entre dominios particulares de los factores de transcripción (distintos de los dominios DBD, denominados los **dominios de activación**; **AD**) de estas proteínas y el resto de la maquinaria de transcripción (RNA polimerasa II, los factores basales **TFIIA**, **B**, **D**, **E**, **F**, y otros factores correguladores como Mediador, remodeladores de cromatina y factores modificadores de cromatina). (Véase más adelante, y las figs. 36-9 y 36-10.) La interacción entre proteína y DNA en la secuencia TATA que incluye RNA polimerasa II y otros componentes de la maquinaria de transcripción basal asegura la fidelidad del inicio.

Juntos, los elementos torrente arriba promotor y *cis*-activo proximal promotor confieren fidelidad y frecuencia de inicio en un gen. La secuencia TATA tiene un requerimiento en especial rígido tanto de posición como de orientación. Los cambios de una sola base en cualquiera de estos elementos *cis* pueden tener efectos notorios sobre la

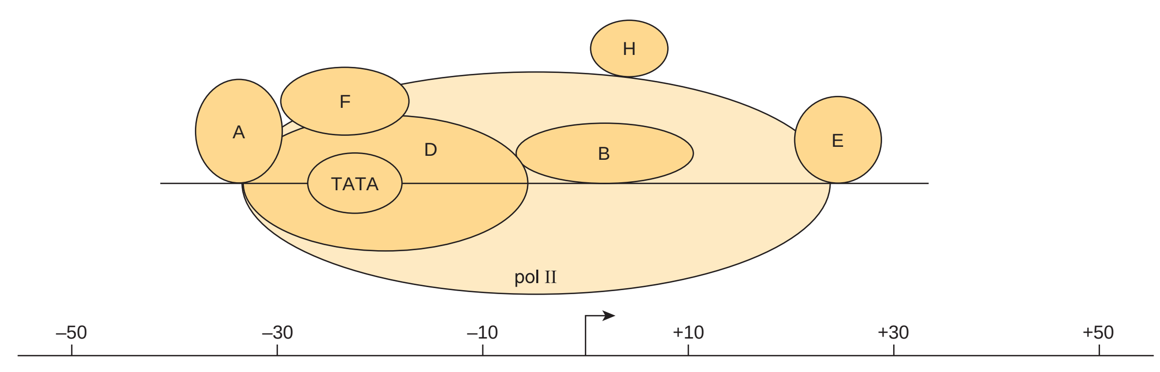


FIGURA 36-9 El complejo de transcripción basal eucariótico. La formación del complejo de transcripción basal empieza cuando el TFIID se une a la secuencia TATA. Dirige el montaje de varios otros componentes por medio de interacciones entre proteína y DNA, y entre una proteína y otra; TFIIA, B, E, F, H y polimerasa II (pol II). Todo el complejo abarca DNA desde la posición −30 hasta +30 respecto al sitio de inicio (+1, marcado por la flecha doblada). El nivel atómico, estructuras derivadas de rayos X de RNA polimerasa II sola, y de TBP unida al DNA promotor TATA en presencia de TFIIB o TFIIA, se han resuelto a resolución de 3 Å. Las estructuras de los complejos TFIID y TFIIH se han determinado mediante microscopia electrónica a resolución de 30 Å. De este modo, las estructuras moleculares de la maquinaria de transcripción están empezando a elucidarse. Gran parte de esta información estructural es congruente con los modelos aquí presentados.

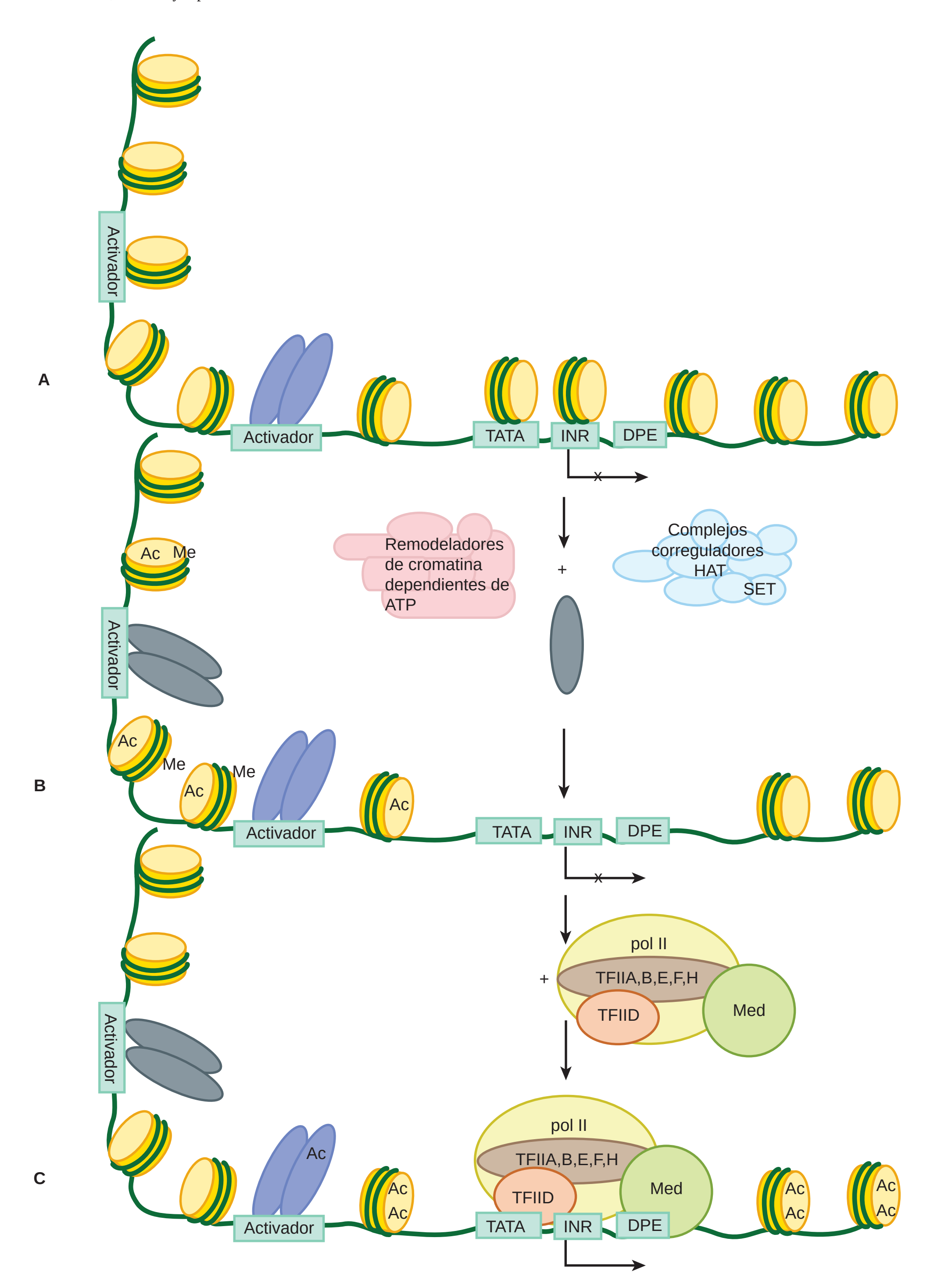


FIGURA 36-10 La remoción del nucleosoma por correguladores activos en la cromatina facilita la formación de PIC y la transcripción. En **A** se muestra un gen que codifica para mRNA inactivo con un factor de transcripción único unido a su sitio aumentador cognado (activador). El elemento aumentador estuvo libre de nucleosoma y, por tanto, disponible para interacción con esta proteína de unión activadora particular. Este gen es inactivo debido al hecho de que una parte del aumentador y la totalidad del promotor están cubiertas por nucleosomas. El factor de transcripción activador unido a aumentador interactúa de manera directa con cualquiera de varios remodeladores de cromatina dependientes de ATP y correguladores modificadores de cromatina, separados. Juntos, estos correguladores tienen la capacidad para mover, o eliminar, o ambas cosas, nucleosomas (remodeladores dependientes de ATP), así como para modificar de modo covalente histonas nucleosómicas usando acetilasas intrínsecas (HAT; que da por resultado acetilación [Ac]) y metilasas (SET; que origina metilación [Me]), portadas por subunidades de estos complejos. Los cambios resultantes de la posición del nucleosoma y la ocupación del nucleosoma permiten la unión de transactivadores de unión a DNA adicionales (ilustrados en **B**) y finalmente la formación de un PIC activo y transcripción (ilustrado en **C**).

función al reducir la afinidad de unión de los factores *trans* cognados (TFIID/TBP o Sp1, CTF y factores similares). También es crucial el espaciado de la secuencia TATA, Inr y elementos promotores DPE.

Una tercera clase de elementos de secuencia puede aumentar o disminuir el índice de inicio de transcripción de genes eucarióticos. Estos elementos se llaman **aumentadores** o **represores (**o **silenciadores)**, dependiendo de cómo afectan la síntesis de RNA. Se han encontrado en diversas ubicaciones tanto torrente arriba como torrente abajo del sitio de inicio de transcripción, e incluso dentro de las porciones codificadoras de proteína transcritas de algunos genes. Los aumentadores y silenciadores pueden ejercer sus efectos cuando están ubicados a miles o incluso decenas de miles de bases de unidades de transcripción localizadas en el mismo cromosoma. Sorprende que los aumentadores y silenciadores pueden funcionar de una manera independiente de la orientación. Se han descrito literalmente cientos de estos elementos. En algunos casos, los requisitos de secuencia para unión están rígidamente restringidos; en otros, se permite considerable variación de secuencia. Algunas secuencias únicamente se unen a una proteína única, pero casi todas se unen a varias proteínas diferentes. Juntos, estos muchos transfactores que se unen a elementos *cis* distales y proximales promotores regulan la transcripción en respuesta a una vasta gama de señales biológicas. Esos eventos reguladores de la transcripción contribuyen de modo importante al control de la expresión de gen.

Señales específicas regulan la terminación de transcripción

Las **señales para la terminación de transcripción** por RNA polimerasa II eucariótica sólo se entienden poco. Parece ser que las señales de terminación existen torrente muy abajo de la secuencia de codificación de genes eucarióticos. Por ejemplo, la señal de terminación de transcripción para la globina β de ratón ocurre en varias posiciones 1 000 a 2 000 bases más allá del sitio en el cual finalmente se añadirá la cola poli(A). Se sabe menos en cuanto al proceso de terminación o si participan factores de terminación específicos similares al factor ρ bacteriano. Con todo, se conoce que la formación del 3′ terminal del mRNA, que se genera después de la transcripción, está acoplada de alguna manera a eventos o estructuras formados en el momento y el sitio de inicio. Además, la formación de mRNA, y en este caso la formación del extremo 3′ depende de una estructura especial en una de las subunidades de RNA polimerasa II (el CTD; véase más adelante), y este proceso parece comprender al menos dos pasos, como sigue. Luego de que una RNA polimerasa II ha atravesado la región de la unidad de transcripción que codifica para el extremo 3′ de la transcripción, RNA endonucleasas dividen la transcripción primaria en una posición alrededor de 15 bases 3′ de la secuencia de consenso **AAUAAA** que en transcripciones eucarióticas sirve como una señal de división y poliadenilación. Finalmente, esta terminal 3′ recién formada se poliadenila en el nucleoplasma, como se describe más adelante.

EL COMPLEJO DE TRANSCRIPCIÓN EUCARIÓTICO

Un aparato complejo que consta de hasta 50 proteínas únicas proporciona transcripción precisa y regulable de genes eucarióticos. Las enzimas RNA polimerasa (pol I, pol II y pol III) transcriben información contenida en la cadena plantilla de DNA hacia RNA. Estas polimerasas deben reconocer un sitio específico en el promotor para iniciar la transcripción en el nucleótido apropiado. En contraste con la situación en procariotas, las RNA polimerasas eucarióticas solas son incapaces de distinguir entre secuencias promotoras y otras regiones del DNA; de este modo, otras proteínas conocidas como **factores de transcripción general** o **GTF** facilitan la unión específica para promotor de estas enzimas, y la formación del complejo de preinicio (PIC). Esta combinación de componentes puede catalizar la transcripción basal o (no)-desregulada *in vitro*. Otro grupo de proteínas —coactivadores, o correguladores— trabajan en conjunto con transfactores de unión a DNA para ayudar a regular el índice de transcripción; las tres clases de proteínas interactúan para efectuar regulación de la transcripción (véase más adelante).

Formación del complejo de transcripción pol II

En bacterias, un complejo de factor σ-holoenzima polimerasa, Eσ, se une de manera selectiva a DNA promotor para formar el PIC. La situación es más compleja en genes eucarióticos. Los genes codificadores de mRNA, que son transcritos por pol II, se describen como un ejemplo. En el caso de genes transcritos por pol II, la función de los factores σ es asumida por diversas proteínas. La formación del PIC necesita, además de pol II, varios de los denominados **factores de transcripción general (GTF) llamados TFIIA**, **TFIIB**, **TFIID**, **TFIIE**, **TFIIF** y **TFIIH**. Estos GTF sirven para promover la transcripción de RNA polimerasa II en esencia en todos los genes. Algunos de estos GTF están compuestos de múltiples subunidades. El **TFIID**, que se **une al elemento promotor secuencia TATA**, es el único de estos factores que independientemente es capaz de unión específica, de alta afinidad a DNA promotor. El TFIID consta de proteína de unión a TATA (TBP) y 14 factores asociados con TBP (TAF).

El TBP se une a la secuencia TATA en el surco menor del DNA (casi todos los factores de transcripción se unen en el surco mayor) y origina una flexión o acodamiento de aproximadamente 100 grados de la hélice de DNA. Se cree que esta flexión facilita la interacción de factores vinculados con TBP con otros componentes del complejo de inicio de transcripción, el promotor eucariótico de múltiples componentes, y posiblemente con factores unidos a elementos torrente arriba. Aunque al principio definido como un componente únicamente requerido para transcripción de promotores de gen pol II, el TBP, en virtud de su asociación con distintos grupos de TAF específicos para polimerasa, separados, también es un componente importante de los complejos de inicio pol I y pol III, incluso si no contienen secuencias TATA.

La unión de TFIID marca un promotor específico para la transcripción. De varios pasos *in vitro* subsiguientes, el primero es la unión de TFIIA, y después de TFIIB, al complejo de TFIID-promotor. Esto da por resultado un complejo ternario estable que luego se ubica con mayor exactitud y más estrechamente unido en el sitio de inicio de transcripción. Este complejo a continuación atrae y ata el complejo de pol II-TFIIF al promotor. La adición de TFIIE y la de TFIIH son los pasos finales en el montaje del PIC. El TFIIE parece unirse al complejo con pol II-TFIIF, y a continuación se recluta TFIIH. Cada uno de estos eventos de unión extiende el tamaño del

complejo, de modo que finalmente quedan cubiertas alrededor de 60 bp (desde −30 hasta +30 respecto a +1, el nucleótido desde el cual comienza la transcripción) (fig. 36-9). El PIC ahora está completo y tiene capacidad de transcripción basal iniciada a partir del nucleótido correcto. En genes que carecen de una secuencia TATA se requieren los mismos factores. En esos casos, la Inr o el DPE sirve para (fig. 36-8) colocar al complejo en la posición adecuada para inicio preciso de la transcripción.

La accesibilidad de promotor y, por ende, la formación del PIC a menudo están moduladas por nucleosomas

En ciertos genes eucarióticos la maquinaria de transcripción (pol II, etc.) no puede tener acceso a las secuencias promotoras (es decir, TATA-INR-DPE) porque estos elementos promotores esenciales están envueltos en nucleosomas (fig. 36-10). Los nucleosomas represores sólo se eliminan después de que los factores de transcripción se unen a DNA aumentador torrente arriba del promotor, y reclutan factores remodeladores de cromatina y correguladores modificadores, como los factores Swi/Snf, SRC-1, p300/CBP (cap. 42) o P/CAF, (fig. 36-10). Una vez que el promotor está "abierto" luego de evicción de nucleosoma, pol II y otras proteínas esenciales pueden unirse e iniciar transcripción de gen de mRNA. Nótese que la unión de transactivadores y correguladores puede ser sensible a, o controlar de manera directa, o ambas, el estado de modificación covalente de las histonas dentro de los nucleosomas en y alrededor del promotor y aumentador y, así, aumentar o disminuir la capacidad de todos los otros componentes requeridos para la formación de PIC para interactuar con un gen particular. Este denominado **código epigenético de modificaciones de histonas y proteína** puede contribuir de modo importante al control de la transcripción de gen. En realidad, las mutaciones en proteínas que catalizan (escritoras de código) o que se unen de manera diferencial (lectoras de código) a histonas modificadas pueden llevar a enfermedad en seres humanos.

La fosforilación activa a la pol II

La pol II eucariótica consta de 12 subunidades. Las dos subunidades de mayor tamaño, de 150 y 190 kDa, son homólogas a las subunidades β y β′ bacterianas. Además del número incrementado de subunidades, la pol II eucariótica difiere de su homóloga procariótica por cuanto tiene una serie de repeticiones heptada con secuencia de consenso Tir-Ser-Pro-Tr-Ser-Pro-Ser en el carboxilo terminal de la subunidad pol II de mayor tamaño. Este **dominio de repetición terminal carboxilo (CTD)** tiene 26 unidades repetidas en la levadura de cerveza, y 52 unidades en células de mamífero. El CTD es tanto un sustrato para varias cinasas, entre ellas el componente cinasa de TFIIH, como un sitio de unión para una amplia gama de proteínas. El CTD ha mostrado interactuar con muchas enzimas procesadoras de RNA, así como con proteínas transportadoras nucleares. De este modo, la asociación de estos factores con el CTD de la RNA polimerasa II (y otros componentes de la maquinaria basal) sirve para acoplar el inicio de la transcripción con la edición de mRNA, la formación del extremo 3′, y transporte hacia el citoplasma. La pol II se activa cuando se fosforila en los residuos Ser y Tr, y despliega menor actividad cuando el CTD se desfosforila. La fosforilación/desfosforilación de CTD es crucial para la eliminación del promotor, el alargamiento, la terminación, e incluso el procesamiento apropiado del mRNA. La pol II que carece de la cola CTD es incapaz de activar la transcripción, y las células que expresan pol II que carece de CTD son inviables. Esos resultados subrayan la importancia de este dominio.

La pol II puede asociarse con otras proteínas llamadas proteínas **Mediadoras** o **Med** para formar un complejo que a veces se denomina la holoenzima pol II; este complejo puede formarse en el promotor o en solución antes de la formación del PIC (véase más adelante). Las proteínas Med son esenciales para la regulación apropiada de la transcripción de pol II al desempeñar muchísimas funciones, que tanto activan como reprimen la transcripción. De esta manera, Mediador, al igual que TFIID, es un corregulador transcripcional (véase más adelante). Se han descrito formas complejas de la holoenzima RNA polimerasa II (pol II más Med) en células de ser humano que contienen más de 30 proteínas Med (Med 1 a Med 31).

La función de activadores y correguladores de la transcripción

Originalmente se consideró que el TFIID era una proteína única, la TBP. Aun así, varios fragmentos de evidencia llevaron al importante descubrimiento de que el TFIID de hecho es un complejo que consta de TBP y las 14 TAF. La primera evidencia de que el TFIID era más complejo que únicamente las moléculas de la TBP provino de la observación de que la TBP se une a un segmento de DNA de 10 bp, inmediatamente sobre la secuencia TATA del gen, mientras que el holo-TFIID natural cubre una región de 35 bp o de mayor tamaño (fig. 36-9). En segundo lugar, la TBP tiene una masa molecular de 20 a 40 kDa (dependiendo de la especie), mientras que el complejo de TFIID tiene una masa de aproximadamente 1000 kDa. Finalmente, y quizá lo que tiene mayor importancia, la TBP apoya la transcripción basal, no así la transcripción aumentada proporcionada por ciertos activadores, p. ej., Sp1 unido a la secuencia GC. Por otra parte, el TFIID apoya la transcripción tanto basal como aumen-

CUADRO 36-3 Algunos de los elementos de control de transcripción, sus secuencias de consenso, y los factores que se unen a ellos que se encuentran en genes de mamífero transcritos por la RNA polimerasa II

Elemento	Secuencia de consenso	Factor
Secuencia TATA	TATAAA	TBP/TFIID
Secuencia CAAT	CCAATC	C/EBP*, NF-Y*
Secuencia GC	GGGCGG	Sp1*
	CAACTGAC	Myo D
	T/CGGA/CN$_5$GCCAA	NF1*
Octámero de Ig	ATGCAAAT	Oct1, 2, 4, 6*
AP1	TGAG/CTC/AA	Jun, Fos, ATF*
Respuesta sérica	GATGCCCATA	SRF
Choque por calor	(NGAAN)$_3$	HSF

Nota: una lista completa incluiría cientos de ejemplos. Los asteriscos significan que hay varios miembros de esta familia.

CUADRO 36-4 Tres clases de factores de transcripción comprendidas en la transcripción de gen que codifica para mRNA

Mecanismos generales	Componentes especícos
Componentes basales	TBP, TFIIA, B, E, F y H
Correguladores	TAF (TBP + TAF) = TFIID; Mediador, Med Modicadores de cromatina Remodeladores de cromatina
Activadores	SP1, ATF, CTF, AP1, etc.

tada por Sp1, Oct1, AP1, CTF, ATF, etc. (cuadro 36-3). Los TAF son esenciales para esta transcripción aumentada por activador. Probablemente hay varias formas de TFIID que difieren un poco en su complemento de TAF. Así, diferentes combinaciones de TAF con TBP —o uno de varios factores parecidos a TBP recién descubiertos (TLF)— se unen a diferentes promotores, e informes recientes sugieren que esto puede explicar la activación de gen selectiva para tejido o célula notada en diversos promotores, y las diferentes potencias de ciertos promotores. Los TAF, puesto que se necesitan para la acción de los activadores, suelen llamarse coactivadores o correguladores. De este modo, hay tres clases de factores de transcripción involucradas en la regulación de los genes pol II: pol II y GTF, correguladores y activadores-represores de unión a DNA (fig. 36-4). La manera en que estas clases de proteínas interactúan para regir tanto el sitio como la frecuencia de transcripción es una interrogante de importancia fundamental. Se cree que los correguladores actúan como un puente entre los transactivadores de unión a DNA y pol II/GTF, y que modifican la cromatina.

Dos modelos pueden explicar el montaje del complejo de preinicio

La formación del PIC antes descrito se basa en la adición secuencial de componentes purificados según se observa por medio de experimentos *in vitro*. Una característica esencial de este modelo es que el montaje de PIC tiene lugar sobre una plantilla de DNA donde todas las proteínas de transcripción tienen fácil acceso al DNA. Por consiguiente, se cree que los activadores de la transcripción, que tienen dominios de unión y de activación de DNA autónomos (cap. 38), funcionan al estimular la formación de PIC. Aquí el TAF o los Complejos Mediadores se consideran factores que forman puentes que comunican entre los activadores unidos torrente arriba, y los GTF y pol II. Esta opinión asume que hay **montaje por pasos** del PIC, promovido por diversas interacciones entre activadores, coactivadores y componentes del PIC (fig. 36-11, panel A). Este modelo recibió apoyo por observaciones de que muchas de estas proteínas en realidad pueden unirse entre sí *in vitro*.

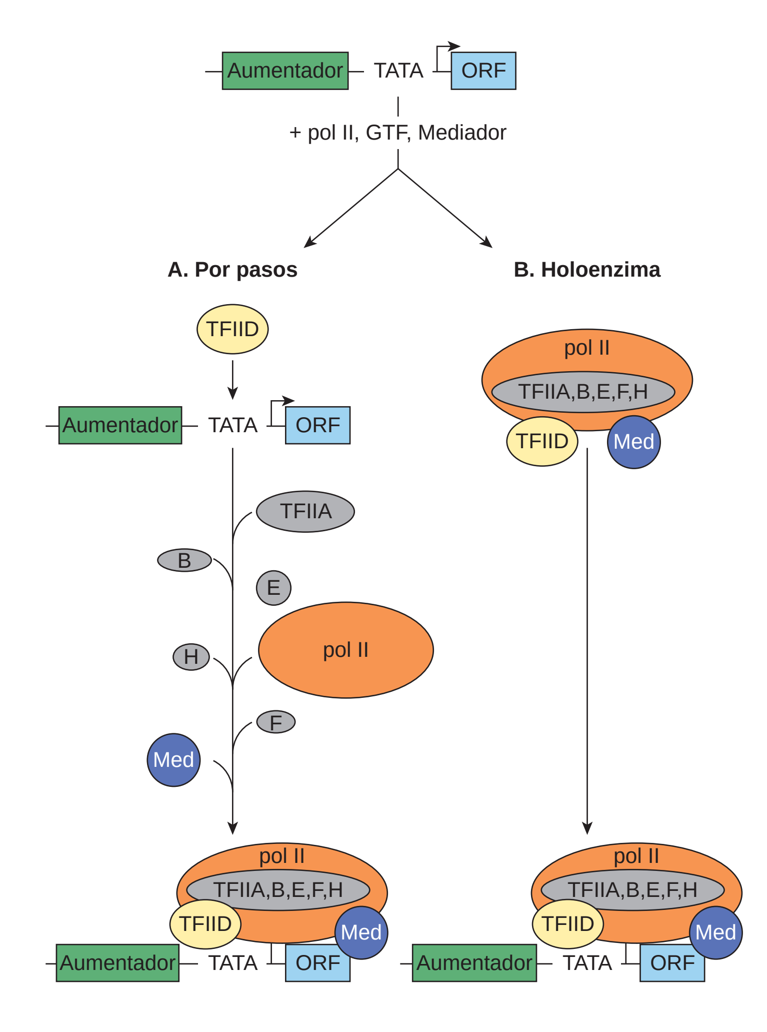


FIGURA 36-11 Modelos para la formación de un PIC pol II. En la parte superior se muestra una unidad de transcripción codificadora de mRNA característica: sitio de inicio (TATA) promotor aumentador (flecha doblada) y región transcrita (ORF; marco de lectura abierto). Se ha mostrado que los PIC se forman por medio de dos mecanismos: **A**) la unión por pasos de GTF, pol II y Mediador, o **B**) mediante la unión de un complejo de múltiples proteínas único compuesto de pol II, Med y los seis GTF. Las proteínas transactivadoras de unión a DNA se unen de manera específica a aumentadores y en parte facilitan la formación de PIC (o la función de PIC) al unirse de modo directo a las subunidades TFIID-TAF o subunidades Med de Mediador (que no se muestra, fig. 36-10); el o los mecanismos por medio de los cuales esas interacciones entre una proteína y otra estimulan la transcripción todavía están sujetos a investigación intensa.

Evidencia reciente sugiere que hay otro posible mecanismo de formación de PIC y, de este modo, regulación de la transcripción. En primer lugar, se encuentran complejos premontados grandes de GTF y pol II en extractos celulares, y estos complejos pueden relacionarse con el promotor en un paso único; en segundo lugar, el índice de transcripción que se logra cuando se añaden activadores a concentraciones limitantes de holoenzima pol II puede igualarse al incrementar la concentración de esta última en ausencia de activadores. Así, por lo menos *in vitro*, pueden establecerse condiciones en las cuales los activadores no son por sí mismos absolutamente esenciales para la formación de PIC. Estas observaciones condujeron a la **hipótesis del "reclutamiento"**, que ahora se ha probado de manera experimental. Expresado en términos simples, la función de activadores y de algunos coactivadores tal vez solamente sea reclutar un complejo de holoenzima-GTF preformado hacia el promotor. El requerimiento de un dominio de activación se evita cuando un componente del TFIID o la holoenzima pol II se fija de manera artificial, usando técnicas de DNA recombinante, al dominio de unión a DNA (DBD) de un activador. Esta fijación, mediante el componente DBD de la molécula activadora, da pie a una estructura competente en el aspecto transcripcional, y no hay requerimiento adicional del dominio de activación del activador. En esta perspectiva, la función de los dominios de activación es dirigir complejos de holoenzima-GTF preformados hacia el promotor; no ayudan en el montaje del PIC (fig. 36-11, panel B). En este modelo, la eficiencia del proceso de reclutamiento determina de modo directo el índice de transcripción en un promotor dado.

LAS MOLÉCULAS DE RNA POR LO REGULAR SE PROCESAN ANTES DE LLEGAR A SER FUNCIONALES

En organismos procarióticos, las transcripciones primarias de genes que codifican para mRNA empiezan a servir como plantillas de traducción incluso antes de que se haya completado su transcripción. Esto puede suceder porque el sitio de transcripción no está compartamentalizado hacia un núcleo como lo está en organismos eucarióticos. De esta manera, la transcripción y traducción están acopladas en células procarióticas. Por tanto, los mRNA procarióticos están sujetos a poco procesamiento antes de llevar a cabo su función prevista en la síntesis de proteína. De hecho, la regulación apropiada de algunos genes (p. ej., el operón *Trp*) depende de este acoplamiento de la transcripción y la traducción. Las moléculas de rRNA y tRNA procarióticas se transcriben en unidades de tamaño considerablemente mayor que la molécula final. En realidad, muchas de las unidades de transcripción de tRNA codifican para más de una molécula de tRNA. De este modo, en procariotas el procesamiento de estas moléculas precursoras de rRNA y tRNA se requiere para la generación de las moléculas funcionales maduras.

Casi todas las transcripciones primarias de RNA eucariótico pasan por procesamiento extenso entre el momento en que se sintetizan y el momento en el cual desempeñan su función final, sea como mRNA, miRNA, o como un componente de la maquinaria de traducción, como rRNA, RNA 5S, o tRNA. El procesamiento ocurre principalmente dentro del núcleo. Los procesos de **transcripción**, **procesamiento de RNA**, **e incluso transporte de RNA desde el núcleo están muy coordinados**. De hecho, se cree que un coactivador transcripcional denominado SAGA en levaduras y P/CAF en células de ser humano, enlaza la activación de la transcripción al procesamiento del RNA al reclutar un segundo complejo llamado TREX para alargamiento, empalme y exportación nuclear de la transcripción. El TREX (exportación de transcripción) representa un probable enlace molecular entre complejos de alargamiento de transcripción, la maquinaria de empalme del RNA, y exportación nuclear (fig. 36-12). Este acoplamiento probablemente aumenta de manera notoria tanto la fidelidad como el índice de procesamiento y movimiento del mRNA hacia el citoplasma para traducción.

Las porciones codificadoras (exones) de casi todos los genes eucarióticos están interrumpidas por intrones

A menudo entremezcladas dentro de las porciones codificadoras de aminoácido **(exones)** de muchos genes, hay secuencias largas de DNA que no contribuyen a la información genética finalmente traducida hacia la secuencia de aminoácido de una molécula de proteína (cap. 35). De hecho, estas secuencias en realidad interrumpen la región codificadora de genes estructurales. Estas **secuencias interpuestas (intrones)** existen dentro de casi todos los genes codificadores para mRNA de eucariotas superiores. Las secuencias de RNA intrón se eliminan de la transcripción, y los exones de la transcripción se empalman de modo apropiado entre sí en el núcleo antes de que la molécula de mRNA resultante aparezca en el citoplasma para traducción (figs. 36-13 y 36-14). Una especulación para esta organización de gen en exón-intrón es que los exones, que suelen codificar para un dominio de actividad, o módulo funcional de una proteína, representan un medio conveniente de revolver información genética, lo que permite a los organismos probar con rapidez los resultados de combinar nuevos dominios funcionales de proteína.

Los intrones se eliminan y los exones se empalman entre sí

Se han descrito cuatro diferentes mecanismos de reacción de empalme para eliminación de intrón. A continuación se describe el que se usa con mayor frecuencia en células eucarióticas. Aun cuando las secuencias de nucleótidos en los intrones de las diversas transcripciones eucarióticas —e incluso las que están dentro de una transcripción única— son bastante heterogéneas, hay secuencias razonablemente conservadas en cada una de las dos uniones de exón-intrón (empalme) y en el sitio de ramificación, que está localizado 20 a 40 nucleótidos torrente arriba desde el sitio de empalme 3′ (véase secuencias de consenso en la fig. 36-14). Un complejo de múltiples componentes especial, el **empalmosoma**, participa en la conversión de la transcripción primaria hacia mRNA. Los empalmosomas constan de la transcripción primaria, cinco RNA nucleares pequeños (U1, U2, U4, U5 y U6) y más de 60 proteínas, muchas de las cuales contienen motivos de proteína "RNP" y "SR" conservados. En conjunto, las cinco proteínas que contienen SnRNA y RNP-/SR forman una **pequeña ribonucleoproteína nuclear denominada complejo SnRNA**. Es probable que este empalmosoma penta-snRNP se forme antes de la interacción con precursores de mRNA. Se cree que los SnRNP colocan los segmentos de RNA de exón e intrón para las reacciones de empalme necesarias. La reacción de empalme empieza con un corte en la unión del exón 5′ (donador o izquierdo)

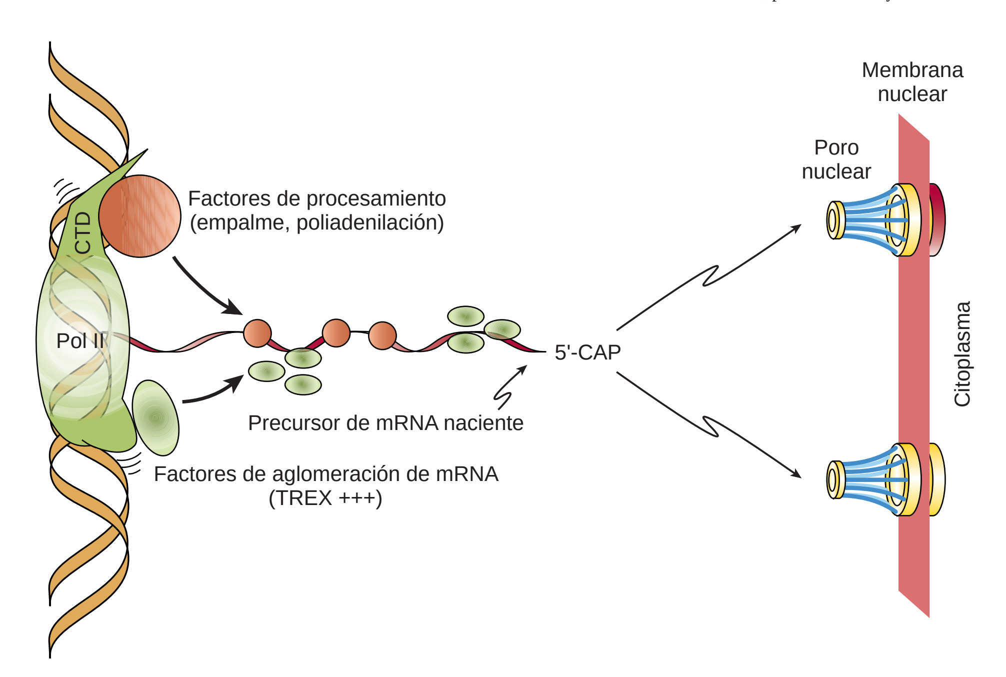


FIGURA 36-12 La transcripción de gen que codifica para mRNA mediada por RNA polimerasa II está acoplada desde el punto de vista cotranscripcional a procesamiento y transporte de RNA. Se muestra la RNA pol II que está transcribiendo de manera activa un gen que codifica para mRNA (alargamiento de arriba abajo en la figura). Los factores de procesamiento de RNA (o sea, factores de empalme que contienen motivo SR/RNP, así como factores de poliadenilación y terminación) interactúan con el dominio CTD de pol II, mientras que los factores de aglomeración de mRNA como el complejo THO/TREX se reclutan hacia la transcripción primaria de mRNA naciente sea mediante interacciones directas con pol II como se muestra, o por medio de interacciones con factores de SR/de empalme residentes en mRNA naciente. Nótese que el CTD no está dibujado a escala. Este dominio conservado de la subunidad Rpb1 de pol II en realidad es 5 a 10 veces la longitud de la polimerasa y, así, es un importante sitio de acoplamiento para proteínas procesadoras y de transporte de RNA. En ambos casos se cree que las cadenas de mRNA nacientes se procesan con mayor rapidez y exactitud debido al reclutamiento rápido de estos muchos factores hacia la cadena de mRNA en crecimiento (precursora). Después del procesamiento apropiado del mRNA, el mRNA maduro se lleva a los poros nucleares que salpican la membrana nuclear, donde, en el momento de transporte a través de los poros, los ribosomas pueden unirse a mRNA y traducirlos hacia proteína. (Adaptada de Jensen *et al*. [2005]. *Molecular Cell* 11:1129-1138.)

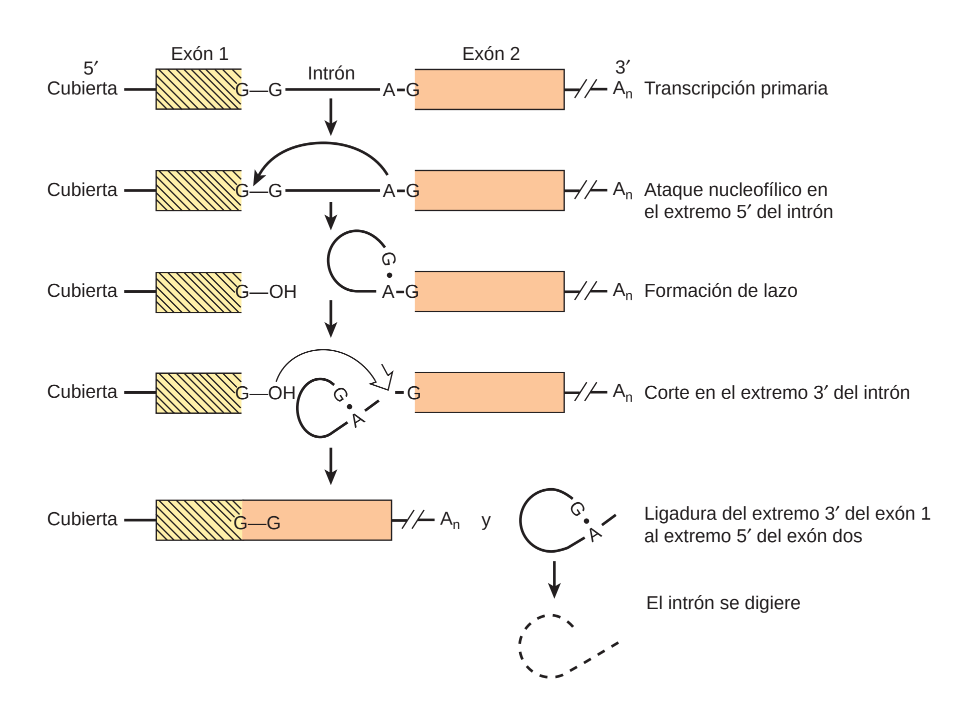


FIGURA 36-13 El procesamiento del transcrito primario hacia mRNA. En esta transcripción hipotética, el extremo 5' **(izquierda)** del intrón se corta (↓), y se forma un lazo entre la G en el extremo 5' del intrón y una A cerca del extremo 3', en la secuencia del consenso UACUA**A**C. Esta secuencia se llama el sitio ramificado, y es la **A** más 3' la que forma el enlace 5'-2' con la G. El extremo 3' **(derecha)** del intrón a continuación se corta ( ). Esto libera el lazo, que es digerido, y el exón 1 es unido al exón 2 en residuos G.

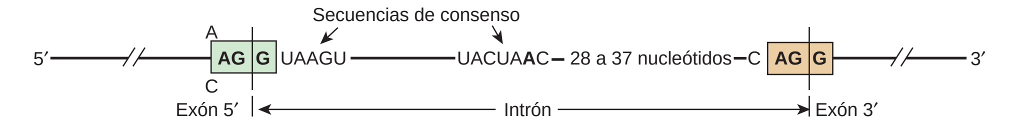


FIGURA 36-14 Secuencias de consenso en uniones de empalme. Se muestran las secuencias 5' (donadora; **izquierda**) y 3' (aceptora; **derecha**). También se muestran las secuencias de consenso de levadura (UACUA**A**C) para el sitio ramificado. En células de mamífero, esta secuencia de consenso es PyNPyPyPuAPy, donde Py es una pirimidina, Pu es una purina, y N es cualquier nucleótido. El sitio de ramificación está ubicado 20 a 30 nucleótidos torrente arriba desde el sitio 3'. (Copyright © 2005. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

y el intrón (fig. 36-13). Esto se logra por medio de ataque nucleofílico por un residuo adenililo en la secuencia de punto de ramificación localizada justo torrente arriba desde el extremo 3′ de este intrón. La terminal 5′ libre forma entonces una estructura en asa o lazo que es unida por un enlace fosfodiéster 5′-2′ poco común a la A reactiva en la secuencia de sitio de ramificación PyNPyPyPuAPy (fig. 36-14). Este residuo adenililo típicamente está localizado 20 a 30 nucleótidos torrente arriba desde el extremo 3′ desde el intrón que se está eliminando. El sitio de ramificación identifica el sitio de empalme 3′. Se hace un segundo corte en la unión del intrón con el exón 3′ (donador a la derecha). En esta segunda reacción de transesterificación, el hidroxilo 3′ del exón torrente arriba ataca al fosfato 5′ en el límite entre exón e intrón torrente abajo, y la estructura en lazo que contiene el intrón se libera y se hidroliza. Los exones 5′ y 3′ se ligan para formar una secuencia continua.

Los snRNA y las proteínas asociadas se necesitan para la formación de las diversas estructuras e intermediarios. U1 dentro del complejo snRNP se une primero mediante formación de par de bases al límite entre exón e intrón 5′. A continuación, U2 dentro del complejo snRNP se une por medio de formación de par de bases al sitio de ramificación, y esto expone el residuo A nucleofílico. U4/U5/U6 dentro del complejo snRNP media un desenrollamiento mediado por proteína, dependiente de ATP, que suscita alteración del complejo U4-U6 formado con par de base, con la liberación de U4. A continuación U6 puede interactuar primero con U2, y después con U1. Estas interacciones sirven para aproximar el sitio de empalme 5′, el punto de ramificación con su A reactiva, y el sitio de empalme 3′. U5 incrementa esta alineación. Este proceso también produce la formación de la estructura en asa o lazo. Los dos extremos se dividen, probablemente por medio del U2-U6 dentro del complejo snRNP. U6 sin duda es esencial, dado que las levaduras con deficiencia de este snRNA no son viables. Es importante notar que el RNA sirve como agente catalítico. Esta secuencia de eventos a continuación se repite en genes que contienen múltiples intrones. En esos casos, se sigue un modelo definido para cada gen, aunque los intrones no necesariamente se eliminan en secuencia —1, después 2, después 3, etcétera.

El empalme alternativo proporciona diferentes mRNA

El procesamiento de moléculas de mRNA es un sitio para la regulación de la expresión de gen. Modelos alternativos de empalme de mRNA se producen por mecanismos de control adaptativos y vinculados con el desarrollo específicos para tejido. Como se mencionó, la secuencia de eventos de empalme de exón de intrón por lo general sigue un orden jerárquico para un gen dado. El hecho de que durante el empalme se forman estructuras de RNA muy complejas —y de que varios snRNA y proteínas están involucrados— proporciona muchas posibilidades para un cambio de este orden y para la generación de diferentes mRNA. De manera similar, el uso de sitios de poliadenilación de división de terminación alternativos también ocasiona variabilidad del mRNA. En la figura 36-15 se muestran algunos ejemplos esquemáticos de estos procesos, todos los cuales suceden en la naturaleza.

El empalme fallido puede traducirse en enfermedad. Al menos una forma de talasemia β, una enfermedad en la cual el gen que codifica para la globina β de la hemoglobina está gravemente expresado de modo insuficiente, parece ser el resultado de un cambio de nucleótido en una unión de exón e intrón, lo que impide la eliminación del intrón y, en consecuencia, lleva a síntesis reducida de la proteína de la cadena β, o a falta de la misma. Ésta es una consecuencia del hecho de que el marco de lectura de traducción normal del mRNA, se altera por un defecto del proceso fundamental de empalme del RNA, lo que subraya la exactitud que debe mantener el proceso de empalme RNA-RNA.

La utilización de promotor alternativo proporciona una forma de regulación

El empalme alternativo puede proporcionar regulación específica para tejido de la expresión de gen, como se mencionó, por medio de elementos de control en el promotor o mediante el uso de promoto-

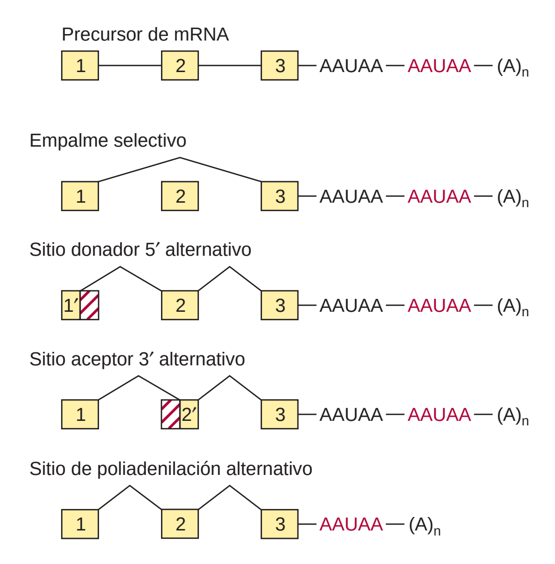


FIGURA 36-15 Mecanismos de procesamiento alternativo de precursores de mRNA. Esta forma de procesamiento de RNA involucra la inclusión o exclusión selectiva de exones, la utilización de sitios 5' donador o 3' aceptor alternativos, y el uso de sitios de poliadenilación diferentes.

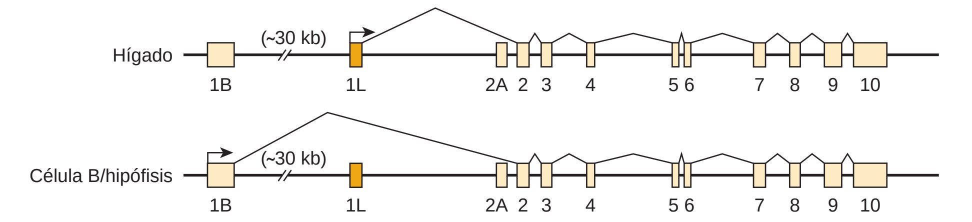


FIGURA 36-16 Uso de promotor alternativo en genes que codifican para glucocinasa en células del hígado, y β pancreáticas. La regulación diferencial del gen que codifica para glucocinasa (*GK*) se logra mediante el uso de promotores específicos para tejido. El promotor de gen *GK* de células β y el exón 1B están localizados a aproximadamente 30 kbp torrente arriba desde el promotor y el exón 1L hepáticos. Cada promotor tiene una estructura singular, y está regulado de modo diferente. Los exones 2 a 10 son idénticos en los dos genes, y las proteínas GK codificadas por los mRNA de células del hígado y β tienen propiedades cinéticas iguales.

res alternativos. El gen que codifica para la glucocinasa (*GK*) consta de 10 exones interrumpidos por nueve intrones. La secuencia de exones 2 a 10 es idéntica en células del hígado, y β pancreáticas, los tejidos primarios en los cuales se expresa la proteína GK. La expresión del gen *GK* está regulada de manera muy diferente —por dos promotores distintos— en estos dos tejidos. El promotor hepático y el exón 1L están localizados cerca de los exones 2 a 10; el exón 1L está ligado de modo directo al exón 2. En contraste, el promotor de células β pancreáticas está localizado unos 30 kbp torrente arriba. En este caso, el límite 3′ del exón 1B está ligado al límite 5′ del exón 2. El promotor hepático y el exón 1L se excluyen y eliminan durante la reacción de empalme (fig. 36-16). La existencia de múltiples promotores distintos permite que haya modelos de expresión específicos para célula y para tejido de un gen particular (mRNA).

Tanto los RNA ribosómicos como casi todos los RNA de transferencia se procesan a partir de precursores de mayor tamaño

En células de mamífero, las tres moléculas de rRNA (28S, 18S, 5.8S) se transcriben como parte de una molécula precursora 45S grande única. El **precursor luego se procesa en el nucléolo** para proporcionar estos tres componentes del RNA para las subunidades de ribosoma que se encuentran en el citoplasma. Los genes que codifican para rRNA están localizados en los nucléolos de células de mamífero. En cada célula hay cientos de copias de estos genes. Este número grande de genes se necesita para sintetizar suficientes copias de cada tipo de rRNA, para formar los 10^7 ribosomas requeridos para cada replicación celular. Mientras que una molécula de mRNA única puede copiarse hacia 10^5 moléculas de proteína, lo que proporciona una amplificación grande, los rRNA son productos terminales. Esta falta de amplificación requiere tanto un número grande de genes como un índice de transcripción alto, típicamente sincronizado con el índice de crecimiento celular. De manera similar, los RNA de transferencia a menudo se sintetizan como precursores, con secuencias extra tanto 5′ como 3′ de las secuencias que comprende el tRNA maduro. Una pequeña fracción de tRNA contiene intrones.

LOS RNA SE PUEDEN MODIFICAR DE MODO EXTENSO

En esencia todos los RNA se modifican de manera covalente después de transcripción. Está claro que por lo menos algunas de estas modificaciones son reguladoras.

El RNA mensajero (mRNA) se modifica en los extremos 5' y 3'

Como se mencionó, las moléculas de mRNA de mamífero contienen una estructura de 7-metilguanosina que hace las veces de cubierta en su 5′ terminal, y casi todos tienen una cola poli(A) en la 3′ terminal. La estructura de cubierta se añade al extremo 5′ del precursor de mRNA recién transcrito en el núcleo antes de transporte de la molécula de mRNA hacia el citoplasma. La **cubierta 5′** de la transcripción de RNA se requiere tanto para el inicio eficiente de la traducción como para la protección del extremo 5′ del mRNA contra ataque por 5′ → 3′ exonucleasas. Las metilaciones secundarias de moléculas de mRNA, las que están en el 2′-hidroxi y el N^7 de residuos adenililo, ocurren luego de que la molécula de mRNA ha aparecido en el citoplasma.

Las colas poli(A) se añaden al extremo 3′ de las moléculas de mRNA en un paso de procesamiento postranscripcional. El mRNA se divide primero alrededor de 20 nucleótidos torrente abajo desde una secuencia de reconocimiento AAUAA. Otra enzima, la **poli(A) polimerasa**, añade una cola poli(A) que después se extiende a hasta 200 residuos A. La **cola poli(A)** parece proteger el extremo 3′ del mRNA contra ataque por 3′ → 5′ exonucleasa. La presencia o ausencia de la cola poli(A) no determina si una molécula precursora en el núcleo aparece en el citoplasma, porque ninguna molécula de mRNA nuclear con cola poli(A) contribuye al mRNA citoplásmico, ni todas las moléculas de mRNA citoplásmicas contienen colas poli(A) (los mRNA histona son más notables a este respecto). Luego de transporte nuclear, las enzimas citoplásmicas en células de mamífero pueden tanto añadir como eliminar residuos adenililo de las colas poli(A); este proceso se ha vinculado con una alteración de la estabilidad y la traducibilidad del mRNA.

El tamaño de algunas moléculas de mRNA citoplásmicas, incluso después de que se elimina la cola poli(A), aún es considerablemente mayor que el tamaño requerido para codificar para la proteína específica para la cual es una plantilla, a menudo por un factor de 2 o 3. Los **nucleótidos extra surgen en regiones no traducidas (no codificadoras para proteína)** tanto 5′ como 3′ de la región codificadora; las secuencias no traducidas más largas generalmente están en el extremo 3′. Se desconoce la función precisa de las secuencias **5′UTR** y **3′UTR**, pero han quedado implicadas en el procesamiento, el transporte, la degradación y la traducción de RNA; cada una de estas reacciones contribuye en potencia con niveles adicionales de control de la expresión de gen. **Los micro-RNA típicamente se dirigen a secuencias dentro del 3′UTR**. Muchos de estos eventos

postranscripcionales que incluyen mRNA ocurren en cuerpos P (cap. 37).

Los micro-RNA se derivan de transcripciones primarias grandes mediante procesamiento nucleolítico específico

Casi todos los miRNA se transcriben por medio de RNA pol II hacia **transcripciones primarias** denominadas **pri-miRNA**. Las pri-miRNA tienen cubierta 5′ y poliadenilación 3′ (fig. 36-17). Las pri-miRNA se sintetizan a partir de unidades de transcripción que codifican para uno o varios miRNA distintos; estas unidades de transcripción están localizadas de modo independiente en el genoma o dentro del DNA intrónico de otros genes. Por ende, los genes que codifican para miRNA deben poseer como mínimo un promotor separado, región codificadora y señales de poliadenilación/terminación. Las pri-miRNA tienen estructura 2° extensa, y esta estructura intramolecular se mantiene luego del procesamiento por la **nucleasa Drosha-DGCR8**; la porción que contiene la horquilla de RNA se preserva, se transporta a través del poro nuclear y una vez en el citoplasma, se procesa más hacia **21 o 22-mer** por la **nucleasa Dicer**. Finalmente, una de las dos cadenas se selecciona para carga hacia el **complejo silenciador inducido por RNA** (**RISC**) para formar un miRNA funcional maduro. Los siRNA se producen de manera similar. Una vez en el complejo RISC, los miRNA pueden modular la función del mRNA (cap. 39).

La edición del RNA cambia el mRNA después de la transcripción

El dogma fundamental afirma que para un gen y producto de gen dados hay una relación lineal entre la secuencia codificadora en el DNA, la secuencia en el mRNA, y la secuencia de la proteína (fig. 35-7). Los cambios en la secuencia del DNA se deben reflejar en un cambio en la secuencia del mRNA y, dependiendo del uso de codón, en la secuencia de proteína. Como quiera que sea, a últimas fechas se han documentado excepciones de esta regla. La información codificadora puede cambiarse en el ámbito del mRNA mediante **edición del RNA**. En esos casos, la secuencia codificadora del mRNA difiere de la que hay en el DNA cognado. Un ejemplo es el gen y mRNA que codifican para la apolipoproteína B *(apoB)*. En el hígado, el gen *apoB* único se transcribe hacia un mRNA que dirige la síntesis de una proteína de 100 kDa, la apoB100. En el intestino, el mismo gen dirige la síntesis de la transcripción primaria; de cualquier modo, una citidina desaminasa convierte un codón CAA en el mRNA hacia UAA en un sitio específico único. En lugar de codi-

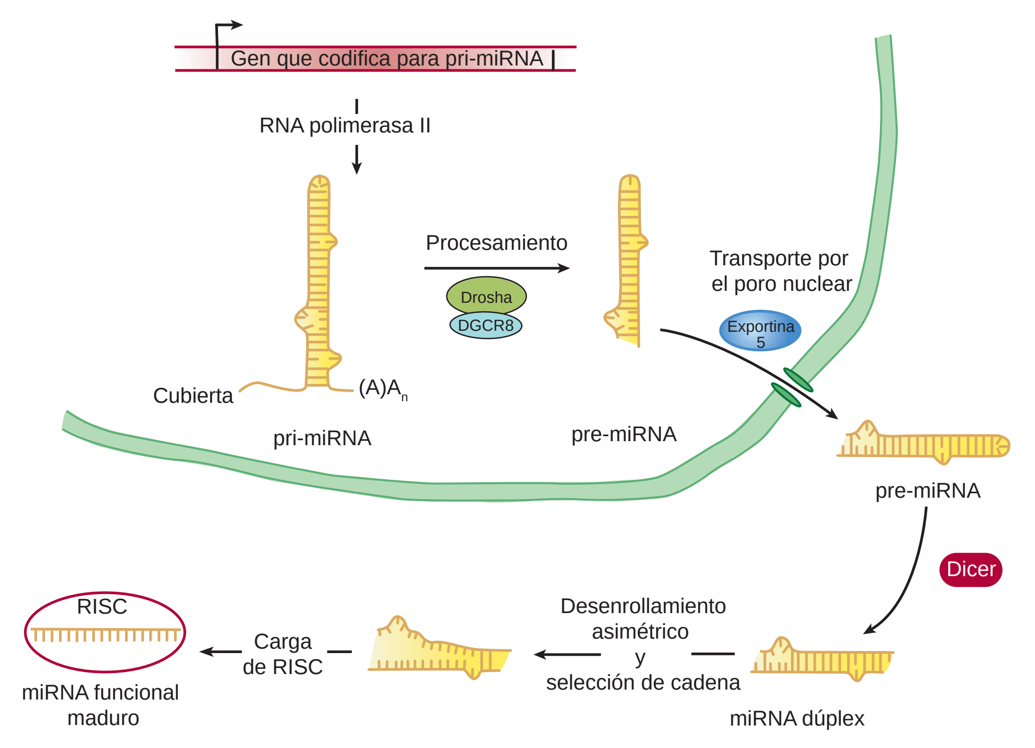


FIGURA 36-17 Biogénesis de miRNA. Los genes codificadores de miRNA se transcriben por medio de la RNA pol II hacia una transcripción de miRNA primaria (pri-miRNA) que tiene una cubierta 5′ y está poliadenilada, como es típico de las transcripciones primarias que codifican para mRNA. Este pri-miRNA está sujeto a procesamiento dentro del núcleo por la acción de la nucleasa Drosha-DGCR8, que recorta secuencias de los extremos 5′ y 3′, lo que genera el pre-miRNA. La exportina-5 transporta a través del poro nuclear este RNA bicatenario parcialmente procesado. A continuación, la acción de la nucleasa de múltiples subunidades denominada Dicer recorta más el pre-miRNA citoplásmico, para formar el miRNA dúplex. Una de las dos cadenas de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo resultantes se selecciona, el dúplex se desenrolla, y la cadena seleccionada se carga hacia el complejo RISC, lo que genera el miRNA maduro, funcional.

ficar para glutamina, este codón se convierte en una señal de terminación, y el resultado es una proteína de 48 kDa (apoB48). La ApoB100 y la apoB48 tienen funciones diferentes en los dos órganos. Un número creciente de otros ejemplos comprende un cambio de glutamina a arginina en el receptor de glutamato, y varios cambios en mRNA mitocondriales de tripanosoma, que por lo general incluyen la adición o deleción de uridina. Se desconoce la extensión precisa de la edición del RNA, pero estimados actuales sugieren que < 0.01% de los mRNA se edita de esta manera. Recientemente, se ha descrito edición de miRNA, lo que sugiere que estas dos formas de mecanismos de control postranscripcionales podrían contribuir de modo cooperativo a la regulación de gen.

El RNA de transferencia (tRNA) se procesa y modifica de manera extensa

Las moléculas de tRNA sirven como moléculas adaptadoras para la traducción del mRNA hacia secuencias proteínicas (caps. 34 y 37). Los tRNA contienen muchas modificaciones de las bases estándar A, U, G y C, entre ellas metilación, reducción, desaminación y enlaces glucosídicos reordenados. La modificación adicional de las moléculas de tRNA comprende alquilaciones de nucleótido y la fijación de la terminal $CpCpA_{OH}$ característica en el extremo 3′ de la molécula por la enzima nucleotidil transferasa. El OH 3′ en la ribosa A es el punto de fijación para el aminoácido específico que va a entrar hacia la reacción de polimerización de la síntesis de proteína. La metilación de precursores de tRNA de mamífero probablemente sucede en el núcleo, mientras que la división y fijación de $CpCpA_{OH}$ son funciones citoplásmicas, puesto que las terminales se recambian con mayor rapidez que las moléculas de tRNA mismas. Las enzimas dentro del citoplasma de células de mamífero se necesitan para la fijación de aminoácidos a los residuos $CpCpA_{OH}$ (cap. 37).

EL RNA PUEDE ACTUAR COMO UN CATALÍTICO

Además de la acción catalítica proporcionada por los snRNA en la formación de mRNA, se han atribuido varias otras funciones enzimáticas al RNA. Las **ribozimas** son moléculas de RNA con actividad catalítica. Éstas regularmente incluyen reacciones de transesterificación, y casi todas muestran vínculo con el metabolismo de RNA (empalme y endorribonucleasa). A últimas fechas se notó que un componente del RNA ribosómico hidroliza un aminoacil éster y, así, desempeña un papel central en la función de enlace peptídico (peptidil transferasas; cap. 37). Estas observaciones, hechas usando moléculas de RNA derivadas de los organelos de vegetales, levaduras, virus y otras células eucarióticas superiores, muestran que el RNA puede actuar como una enzima, y han revolucionado el pensamiento respecto a la acción enzimática y el origen de la vida misma.

RESUMEN

- El RNA se sintetiza a partir de una plantilla de DNA por medio de la enzima RNA polimerasa.
- Hay tres RNA polimerasas dependientes de DNA nucleares distintas en mamíferos: RNA polimerasas I, II y III.
- Estas enzimas catalizan la transcripción de genes que codi can para rRNA (I), mRNA/miRNA (II) y tRNA y rRNA 5S (III).
- Las RNA polimerasas interactúan con regiones *cis*-activas singulares de genes, denominadas promotores, para formar complejos de preinicio (PIC) que tienen la capacidad de inicio. En eucariotas el proceso de la formación de PIC pol II requiere, además de polimerasa, múltiples factores de transcripción generales (GTF), TFIIA, B, D, E, F y H.
- La formación de PIC eucariótico puede ocurrir sobre promotores accesibles por pasos —mediante las interacciones ordenadas secuenciales de GTF y RNA polimerasa con promotores de DNA— o en un paso por medio del reconocimiento del promotor por un complejo de GTF-holoenzima RNA polimerasa preformado.
- La transcripción muestra tres fases: inicio, alargamiento y terminación. Todas dependen de elementos de *cis* DNA separados, y están moduladas por factores proteínicos de acción *trans* separados.
- La presencia de nucleosomas puede ocluir la unión de transfactores y la maquinaria de transcripción, lo que inhibe la transcripción.
- Casi todos los RNA eucarióticos se sintetizan como precursores que contienen secuencias excesivas que se eliminan antes de la generación de RNA maduro, funcional. Estos pasos de procesamiento proporcionan pasos potenciales adicionales para la regulación de la síntesis de RNA.
- La síntesis de mRNA eucarióticos origina un precursor pre-mRNA que contiene RNA en exceso (intrones) que se debe eliminar con precisión mediante empalme de RNA para generar mRNA traducible, funcional, compuesto de secuencias codi cadoras exónicas, y 5′ y 3′ no codi cadoras.
- Todos los pasos, desde cambios en la plantilla, secuencia y accesibilidad de DNA en la cromatina, hasta estabilidad y traducibilidad de RNA, están sujetos a modulación y, por consiguiente, son los sitios de control potenciales para la regulación de gen eucariótico.

REFERENCIAS

Bourbon H-M et al: A unified nomenclature for protein subunits of mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. Mol Cell 2004;14:553.

Busby S, Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. Cell 1994;79:743.

Cramer P, Bushnell DA, Kornberg R: Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 angstrom resolution. Science 2001;292:1863.

Fedor MJ: Ribozymes. Curr Biol 1998;8:R441.

Gott JM, Emeson RB: Functions and mechanisms of RNA editing. Ann Rev Genet 2000;34:499.

Hirose Y, Manley JL: RNA polymerase II and the integration of nuclear events. Genes Dev 2000;14:1415.

Kawauchi J et al: Budding yeast RNA polymerases I and II employ parallel mechanisms of transcriptional termination. Genes Dev 2008;22:1082.

Keaveney M, Struhl K: Activator-mediated recruitment of the RNA polymerase machinery is the predominant mechanism for transcriptional activation in yeast. Mol Cell 1998;1:917.

Kornblihtt AR et al: Multiple links between transcription and splicing. RNA 2004;10:1489.

Lemon B, Tjian R: Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. Genes Dev 2000;14:2551.

Lykke-Andersen S, Jensen TH: Overlapping pathways dictate termination of RNA polymerase II. Biochimie 2007;89:1177).

Maniatis T, Reed R: An extensive network of coupling among gene expression machines. Nature 2002;416:499.

Nishikura K: Editor meets silencer: crosstalk between RNA editing and RNA interference. Nat Rev Mol Cell Biol 2006;26:792.

Orphanides G, Reinberg D: A unified theory of gene expression. Cell 2002;108:439.

Price DH: Poised polymerases: on your mark … get set … go!. Mol Cell 2008; 30:7.

Reed R, Cheng H: TREX, SR proteins and export of mRNA. Curr Opin Cell Biol 2005;17:269.

Shatkin AJ, Manley JL: The ends of the affair: capping and polyadenylation. Nat Struct Biol 2000;7:838.

Sims RJ, Belotserkovskaya R, Reinberg D: Elongation by RNA polymerase II: the short and long of it. Gene Dev 2004;18:2437.

Stevens SW et al: Composition and functional characterization of the yeast spliceosomal penta-snRNP. Mol Cell 2002;9:31.

Tucker M, Parker R: Mechanisms and control of mRNA decapping in *Saccharomyces cerevisiae.* Ann Rev Biochem 2000;69:571.

West S, Proudfoot N, Dye MJ: Molecular dissection of mammalian RNA polymerase II transcriptional termination. Mol Cell 2008;29:600.

Woychik NA, Hampsey M: The RNA polymerase II machinery: structure illuminates function. Cell 2002;108:453.

CAPÍTULO

37

Síntesis de proteínas y el código genético

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las letras A, G, T y C corresponden a los nucleótidos que se encuentran en el DNA. Dentro de los genes que codifican para proteína estos nucleótidos están organizados en palabras con código de tres letras llamadas **codones**, y el conjunto de estos codones constituye el **código genético**. Antes de que se elucidara el código genético, era imposible entender la síntesis de proteína, o explicar las mutaciones. El código proporciona un fundamento para explicar la manera en la cual los defectos de proteína pueden causar enfermedad genética, y para el diagnóstico y quizá el tratamiento de estos trastornos. Además, la fisiopatología de muchas infecciones virales se relaciona con la capacidad de estos agentes infecciosos para alterar la síntesis de proteína de la célula huésped. Muchos antibacterianos son eficaces porque alteran de manera selectiva la síntesis de proteína en la célula bacteriana invasora, pero no afectan dicha síntesis en células eucarióticas.

LA INFORMACIÓN GENÉTICA FLUYE DESDE EL DNA HACIA EL RNA, Y HACIA PROTEÍNA

La información genética dentro de la secuencia de nucleótidos del DNA se transcribe en el núcleo hacia la secuencia de nucleótidos específica de una molécula de RNA. La secuencia de nucleótidos en la transcripción de RNA es complementaria a la secuencia de nucleótidos de la cadena plantilla de este gen de acuerdo con las reglas de la formación de pares de bases. Varias clases de RNA se combinan para dirigir la síntesis de proteínas.

En procariotas hay una correspondencia lineal entre el gen, el **RNA mensajero (mRNA)** transcrito a partir del gen, y el producto polipeptídico. La situación es más complicada en células eucarióticas superiores, en las cuales la transcripción primaria es de mucho mayor tamaño que el mRNA maduro. Los precursores de mRNA grandes contienen regiones codificadoras **(exones)** que formarán el mRNA maduro, y secuencias interpuestas largas **(intrones)** que separan a los exones. El mRNA se procesa dentro del núcleo, y los intrones, que a menudo constituyen una proporción mayor que los exones, se eliminan. Los exones se empalman entre sí para formar el mRNA maduro, que se transporta hacia el citoplasma, donde se traduce hacia proteína.

La célula debe poseer la maquinaria necesaria para traducir con exactitud y eficacia la información desde la secuencia de nucleótidos de un mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína específica correspondiente. Para lograr el entendimiento de este proceso, que se llama **traducción**, hubo que esperar a que se descifrara el código genético. Desde el principio quedó de manifiesto que las moléculas de mRNA por sí mismas carecen de afinidad por aminoácidos y, por ende, que la traducción de la información en la secuencia de nucleótido del mRNA hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína requiere una molécula adaptadora intermedia, que debe reconocer una secuencia de nucleótido específica por un lado, así como un aminoácido específico por el otro. Con esa molécula adaptadora, la célula puede dirigir a un aminoácido específico hacia la posición secuencial apropiada de una proteína durante su síntesis, según lo dicta la secuencia de nucleótidos del mRNA específico. De hecho, los grupos funcionales de los aminoácidos no entran en contacto real por sí mismos con la plantilla de mRNA.

LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDOS DE UNA MOLÉCULA DE mRNA CONTIENE UNA SERIE DE CODONES QUE ESPECIFICAN LA SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE LA PROTEÍNA CODIFICADA

Se requieren 20 aminoácidos diferentes para la síntesis de la totalidad de las proteínas celulares; de este modo, debe haber al menos 20 codones distintos que constituyen el código genético. Dado que sólo hay cuatro nucleótidos diferentes en el mRNA, cada codón debe constar de más de un nucleótido purina o pirimidina único. Los codones que constan de dos nucleótidos cada uno sólo podrían proporcionar 16 (4^2) codones específicos, mientras que los de tres nucleótidos podrían aportar 64 (4^3) codones específicos.

Ahora se sabe que cada codón consta de una secuencia de tres nucleótidos; esto es, **es un código triplete** (cuadro 37-1). El descifrado del **código genético** dependió mucho de la síntesis química de polímeros de nucleótido, en particular tripletes en secuencia repetida. Estas secuencias de ribonucleótidos tripletes sintéticos se usaron como mRNA para programar las síntesis de proteína *in vitro*, lo que permitió a los investigadores deducir el código genético.

CUADRO 37-1 El código genético[1] (asignaciones de codón en RNA mensajeros de mamífero)

Primer nucleótido	Segundo nucleótido				Tercer nucleótido
	U	C	A	G	
U	Fe	Ser	Tir	Cis	U
	Fe	Ser	Tir	Cis	C
	Leu	Ser	Term	Term[2]	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Tr	Asn	Ser	U
	Ile	Tr	Asn	Ser	C
	Ile[2]	Tr	Lis	Arg[2]	A
	Met	Tr	Lis	Arg[2]	G
G	Val	Ala	Asp	Gli	U
	Val	Ala	Asp	Gli	C
	Val	Ala	Glu	Gli	A
	Val	Ala	Glu	Gli	G

[1] Los términos primer, segundo y tercer nucleótido se refieren a los nucleótidos individuales de un codón triplete. U, nucleótido uridina; C, nucleótido citosina; A, nucleótido adenina; G, nucleótido guanina; Term, codón terminador de cadena. AUG, que codifica para Met, sirve como el codón iniciador en células de mamífero, y codifica también para metioninas internas en una proteína. (Las abreviaturas de los aminoácidos se explican en el capítulo 3.)

[2] En mitocondrias de mamífero, AUA codifica para Met, y UGA para Trp, y AGA y AGG sirven como terminadores de cadena.

EL CÓDIGO GENÉTICO ES DEGENERADO, NO AMBIGUO, SIN SUPERPOSICIÓN, SIN PUNTUACIÓN Y UNIVERSAL

Tres de los 64 codones posibles no codifican para aminoácidos específicos; éstos se han denominado **codones sin sentido**, y se utilizan en la célula como **señales de terminación**; especifican dónde va a detenerse la polimerización de aminoácidos cuando se sintetiza una molécula de proteína. Los **61 codones restantes codifican para 20 aminoácidos** (cuadro 37-1). De este modo, debe haber **"degeneración"** en el código genético; esto es, múltiples codones deben decodificar el mismo aminoácido. Algunos aminoácidos son codificados en varios codones; por ejemplo, seis codones diferentes especifican serina. Otros aminoácidos, como la metionina y el triptófano, tienen un solo codón. En general, el tercer nucleótido en un codón tiene menos importancia que los dos primeros en la determinación del aminoácido específico que se va a incorporar, y esto explica la mayor parte de la degeneración del código. Sin embargo, para cualquier codón específico, sólo está indicado un aminoácido único; con raras excepciones, el código genético es **no ambiguo**; esto es, dado un codón específico, sólo un aminoácido único está indicado. **La distinción entre ambigüedad y degeneración es un concepto importante.**

El código no ambiguo pero degenerado puede explicarse en términos moleculares. El reconocimiento de codones específicos en el mRNA por las moléculas adaptadoras de tRNA depende de su **región anticodón** y de reglas de formación de pares de bases específicas. Cada molécula de tRNA contiene una secuencia específica, complementaria a un codón, que se denomina su anticodón. Para un codón dado en el mRNA, sólo una especie única de molécula de tRNA posee el anticodón apropiado. Dado que cada molécula de tRNA puede cargarse con sólo un aminoácido específico, cada codón, por ende, únicamente especifica un aminoácido. Sin embargo, algunas moléculas de tRNA pueden utilizar el anticodón para reconocer más de un codón. **Con pocas excepciones, dado un codón específico, sólo un aminoácido específico se incorporará, aunque, dado un aminoácido específico, puede usarse más de un codón.**

La lectura del código genético durante el proceso de síntesis de proteína no comprende superposición de codones (véase más adelante). **De este modo, el código genético no tiene superposición.** Además, una vez que la lectura comienza en un codón específico, **no hay puntuación** entre los codones, y el mensaje se lee en una secuencia continua de tripletes de nucleótido hasta que se llega a un codón de paro (también denominado de terminación o finalizador) de la traducción.

Hasta hace poco, se creía que el código genético era universal. Ahora se ha mostrado que el juego de moléculas de tRNA en las mitocondrias (que contienen su propio juego, separado y distinto de maquinaria de traducción) de eucariotas inferiores y superiores, incluso seres humanos, lee cuatro codones de manera diferente a partir de las moléculas de tRNA en el citoplasma de incluso las mismas células.

En mitocondrias de mamífero, el codón AUA se lee como Met, y UGA codifica para Trp (cuadro 37-1). Además, en las mitocondrias, los codones AGA y AGG se leen como codones de paro o terminadores de cadena, más que como Arg. Como resultado de estos cambios específicos para organelo en el código genético, las mitocondrias sólo requieren 22 moléculas de tRNA para leer su código genético, mientras que el sistema de traducción citoplásmico posee 31 especies de tRNA en total. Una vez notadas estas excepciones, el **código genético es universal**. La frecuencia de uso de cada codón de aminoácido varía considerablemente entre las especies y entre diferentes tejidos dentro de una especie. Las concentraciones de tRNA específico por lo general reflejan estos sesgos de uso de codón. De este modo, un codón particular que se usa de manera abundante se decodifica por medio de un tRNA específico con abundancia semejante que reconoce ese codón particular. Los

CUADRO 37-2 Características del código genético

• Degenerado
• No ambiguo
• Sin superposición
• Sin puntuación
• Universal

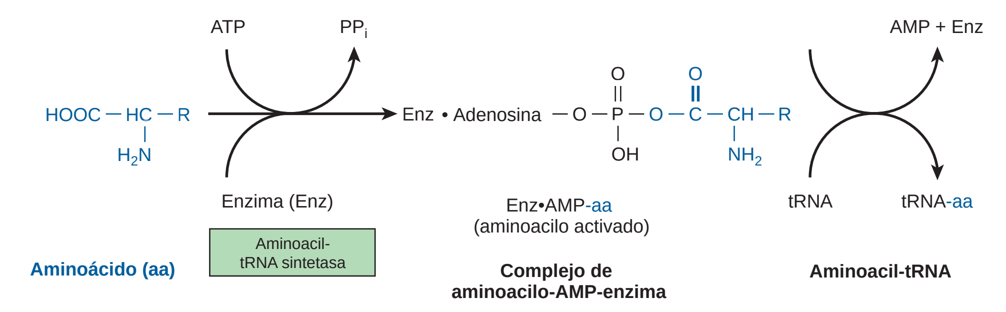


FIGURA 37-1 Formación de aminoacil-tRNA. Una reacción de dos pasos, que comprende la enzima aminoacil-tRNA sintetasa, da por resultado la formación de aminoacil-tRNA. La primera reacción comprende la formación de un complejo de AMP-aminoácido-enzima. Este aminoácido activado a continuación se transfiere hacia la molécula de tRNA correspondiente. El AMP y la enzima se liberan, y esta última puede volver a utilizarse. Las reacciones de carga tienen un índice de error (esto es, esterificación del aminoácido incorrecto en $tRNA_x$) de menos de 10^{-4}.

cuadros de **uso de codón** se están haciendo más exactos a medida que se efectúa secuenciación de más genes y genomas; esa información puede resultar vital para la producción a gran escala de proteínas para propósitos terapéuticos (esto es, insulina, eritropoyetina). Esas proteínas a menudo se producen en células no humanas usando tecnología de DNA recombinante (cap. 39). En el cuadro 37-2 se listan las principales características del código genético.

AL MENOS UNA ESPECIE DE RNA DE TRANSFERENCIA (tRNA) EXISTE PARA CADA UNO DE LOS 20 AMINOÁCIDOS

Las moléculas de tRNA tienen funciones y estructuras tridimensionales extraordinariamente similares. La función adaptadora de las moléculas de tRNA requiere la carga de cada tRNA específico con su aminoácido específico. Dado que no hay afinidad de ácidos nucleicos por grupos funcionales específicos de aminoácidos, este reconocimiento tiene que llevarse a cabo mediante una molécula de proteína capaz de reconocer tanto una molécula de tRNA específico como un aminoácido específico. Se requieren al menos 20 enzimas específicas para estas funciones de reconocimiento, y para la fijación apropiada de los 20 aminoácidos a moléculas de tRNA específicas. El proceso de **reconocimiento y fijación (carga)** que requiere energía procede en dos pasos, y es catalizado por una enzima para cada uno de los 20 aminoácidos. Estas enzimas se llaman **aminoacil-tRNA sintetasas**. Forman un complejo intermedio activado de aminoacilo-AMP-enzima (fig. 37-1). El complejo de aminoacilo-AMP-enzima específico a continuación reconoce un tRNA específico al cual fija la porción aminoacilo en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo. Las reacciones de acoplamiento de aminoácidos tienen un índice de error de menos de 10^{-4} y, así, son bastante exactas. El aminoácido permanece fijo a su tRNA específico en un enlace éster en tanto no se polimeriza en una posición específica en la fabricación de un precursor polipeptídico de una molécula de proteína.

Las regiones de la molécula de tRNA a las que se hace referencia en el capítulo 34 (y que se ilustran en la fig. 34-11) ahora adquieren importancia. El extremo citidina seudouridina ribotimidina (TψC) participa en la unión del aminoacil-tRNA a la superficie ribosómica en el sitio de síntesis de proteína. El brazo D es uno de los centros importantes para el reconocimiento apropiado de una especie de tRNA dada por su aminoacil-tRNA sintetasa apropiada. El brazo aceptor, localizado en la terminal 3′-hidroxilo adenosilo, es el sitio de fijación del aminoácido específico.

La región anticodón consta de varios nucleótidos, y reconoce el codón de tres letras en el mRNA (fig. 37-2). La lectura de secuencia desde la dirección 3′ hacia 5′ en esa asa anticodón consta de una purina-XYZ-pirimidina-pirimidina-5′ modificada por base, variable. Nótese que esta dirección de lectura del anticodón es 3′ a 5′, mientras el código genético que aparece en el cuadro 37-1 se lee 5′ a 3′, dado que el codón y el asa anticodón de las moléculas de mRNA

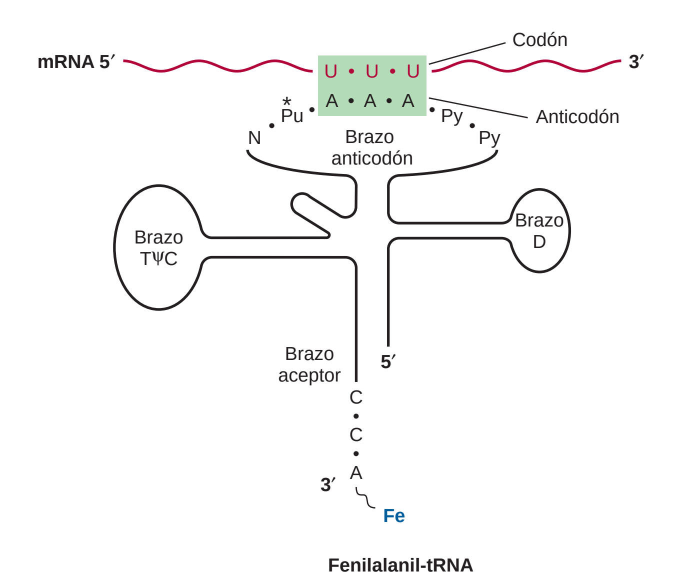


FIGURA 37-2 Reconocimiento del codón por el anticodón. Uno de los codones para fenilalanina es UUU. El tRNA cargado con fenilalanina (Fe) tiene la secuencia complementaria AAA; por ende, forma un complejo de par de base con el codón. La región anticodón típicamente consta de una secuencia de siete nucleótidos: variable (N), purina modificada (Pu*), X, Y, Z (aquí, AAA), y dos pirimidinas (Py) en la dirección 3′ a 5′.

y tRNA, respectivamente, son **antiparalelos** en su complementariedad del mismo modo que todas las otras interacciones intermoleculares entre cadenas de ácido nucleico.

La degeneración del código genético reside en su mayor parte en el último nucleótido del triplete codón, lo que sugiere que la formación de pares de bases entre este último nucleótido y el nucleótido correspondiente del anticodón no ocurre de manera estricta con base en la regla de Watson-Crick. Esto se llama **bamboleo**; la formación de pares del codón y anticodón puede "bambolear" en este sitio de formación de par de nucleótido a nucleótido específico. Por ejemplo, los dos codones para la arginina, AGA y AGG, pueden unirse al mismo anticodón que tiene un uracilo en su extremo 5′ (UCU). De modo similar, tres codones para glicina —GGU, GGC y GGA— pueden formar un par de bases a partir de un anticodón, 3′ CCI 5′ (esto es, I puede formar par de base con U, C y A). I es un nucleótido inosina purina generado mediante desaminación de adenina (véase la estructura en la fig. 33-2), otra de las bases peculiares que a menudo aparecen en moléculas de tRNA.

CUANDO OCURREN CAMBIOS EN LA SECUENCIA DE NUCLEÓTIDO SE PRODUCEN MUTACIONES

Aunque el cambio inicial puede no ocurrir en la cadena molde de la molécula de DNA bicatenaria para ese gen, después de la replicación, moléculas de DNA hijas con mutaciones en la cadena molde se segregarán y aparecerán en la población de organismos.

Algunas mutaciones ocurren por sustitución de base

Los cambios de base únicos **(mutaciones puntuales)** pueden ser **transiciones** o **transversiones**. En las primeras, una pirimidina dada se cambia a la otra pirimidina, o una purina dada se cambia a la otra purina. Las transversiones son cambios de una purina a una u otra de las dos pirimidinas, o el cambio de una pirimidina hacia una u otra de las dos purinas (fig. 37-3).

Si la secuencia de nucleótido del gen que contiene la mutación se transcribe hacia una molécula de RNA, la molécula de RNA por supuesto poseerá el cambio de base en la ubicación correspondiente.

Los cambios de base únicos en las moléculas de mRNA pueden tener uno de varios efectos cuando se traducen hacia proteína:

1. Puede haber efecto detectable nulo debido a la degeneración del código; esas mutaciones a menudo se denominan **mutaciones silentes**. Esto sería más probable si la base cambiada en la molécula de mRNA fuera a estar en el tercer nucleótido de un codón. Debido al efecto de bamboleo, la traducción de un codón es menos sensible a un cambio en la posición tercera.
2. Ocurrirá un **efecto de sentido equivocado** (o de sentido alterado) cuando se incorpora un aminoácido distinto en el sitio correspondiente en la molécula de proteína. Este aminoácido equivocado —o de sentido equivocado, dependiendo de su ubicación en la proteína específica— podría ser aceptable, parcialmente aceptable, o inaceptable para la función de esa molécula de proteína. A partir de un examen cuidadoso del código genético, puede concluirse que casi todos los cambios de base única darían por resultado el remplazo de un aminoácido por otro con grupos funcionales más bien similares. Éste es un mecanismo eficaz para evitar cambio drástico de las propiedades físicas de una molécula de proteína. Si ocurre un efecto de sentido equivocado aceptable, la molécula de proteína resultante puede no ser distinguible de la normal. Un sentido equivocado parcialmente aceptable dará por resultado una molécula de proteína con función parcial pero anormal. Si ocurre un efecto de sentido equivocado inaceptable, la molécula de proteína será incapaz de funcionar de manera normal.
3. Puede aparecer un **codón sin sentido** que después daría por resultado la **terminación prematura** de la incorporación de aminoácido hacia una cadena peptídica, y la producción de sólo un fragmento de la molécula de proteína proyectada. Hay probabilidad alta de que la terminación prematura de una molécula de proteína o de un fragmento de péptido hará que no funcione en su papel asignado.

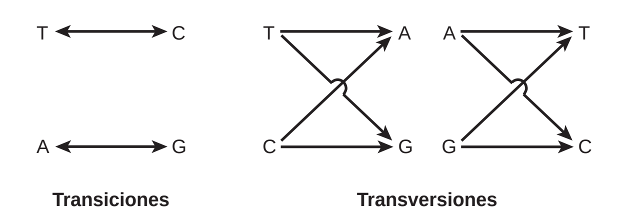


FIGURA 37-3 Representación esquemática de mutaciones por transición y mutaciones por transversión.

La hemoglobina ilustra los efectos de cambios de base única en genes que codifican para proteína

Algunas mutaciones no tienen efecto manifiesto. El sistema de gen que codifica para la hemoglobina es uno de los mejor estudiados en seres humanos. La ausencia de efecto de un cambio de base única sólo es demostrable mediante secuenciación de los nucleótidos en las moléculas de mRNA o genes cognados. La secuenciación de un gran número de mRNA y genes que codifican para hemoglobina provenientes de muchos individuos ha mostrado que el codón para la valina en la posición 67 de la cadena β de la hemoglobina no es idéntico en todas las personas que poseen una hemoglobina de cadena β funcional normal. La hemoglobina Milwaukee tiene un ácido glutámico en la posición 67; la hemoglobina Bristol contiene ácido aspártico en la posición 67. Para explicar el cambio de aminoácido por el cambio de un residuo nucleótido único en el codón por el aminoácido 67, es necesario inferir que el mRNA que codifica para hemoglobina Bristol poseyó un codón GUU o GUC antes de un cambio posterior hacia GAU o GAC, ambos codones para ácido aspártico. Sin embargo, el mRNA que codifica para la hemoglobina Milwaukee tendría que poseer un codón GUA o GUC en la posición 67 para que un cambio de nucleótido único pudiera proveer la aparición de los codones de ácido glutámico GAA o GAG. La hemoglobina Sidney, que contiene una alanina en la posición 67, podría haber surgido por el cambio de un nucleótido

	Molécula de proteína	Aminoácido	Codones
Sentido equivocado aceptable	Hb A, cadena β → Hb Hikari, cadena β	Lisina 61 → Asparagina	AAA o AAG → AAU o AAC
Sentido equivocado parcialmente aceptable	Hb A, cadena β → Hb S, cadena β	Glutamato 6 → Valina	GAA o GAG → GUA o GUG
Sentido equivocado inaceptable	Hb A, cadena α → Hb M (Boston), cadena α	Histidina 58 → Tirosina	CAU o CAC → UAU o UAC

FIGURA 37-4 Ejemplos de tres tipos de mutaciones de sentido equivocado que dan por resultado cadenas de hemoglobina anormales. Se indican las alteraciones de aminoácido y posibles alteraciones en los codones respectivos. La hemoglobina Hikari, con mutación de la cadena β, al parecer tiene propiedades fisiológicas normales, pero está alterada desde el punto de vista electroforético. La hemoglobina S tiene una mutación de la cadena β y función parcial; la hemoglobina S se une al oxígeno pero se precipita cuando se desoxigena. La hemoglobina M Boston, una mutación de la cadena α, permite la oxidación del hierro ferroso hem hacia el estado férrico y, así, no se unirá al oxígeno.

único en cualquiera de los cuatro codones para valina (GUU, GUC, GUA o GUG) a los codones de alanina (GCU, GCC, GCA o GCG, respectivamente).

La sustitución de aminoácidos causa mutaciones de sentido equivocado

Mutaciones de sentido equivocado aceptables

Un ejemplo de una mutación de sentido equivocado aceptable (fig. 37-4, arriba) en el gen estructural que codifica para la cadena β de la hemoglobina podría detectarse por la presencia de una hemoglobina alterada desde el punto de vista electroforético en los eritrocitos de un individuo al parecer sano. La hemoglobina Hikari se ha encontrado en al menos dos familias de japoneses. Esta hemoglobina tiene lisina sustituida por asparagina en la posición 61 de la cadena β. La transversión correspondiente podría ser AAA o AAG cambiado hacia AAU o AAC. El remplazo de la lisina específica por asparagina al parecer no altera la función normal de la cadena β en estos individuos.

Mutaciones de sentido equivocado parcialmente aceptables

Una mutación de sentido equivocado parcialmente aceptable (fig. 37-4, centro) se ejemplifica mejor mediante la **hemoglobina S**, que se encuentra en la anemia de células falciformes. Aquí, el ácido glutámico, el aminoácido normal en la posición 6 de la cadena β, ha quedado remplazado por valina. El cambio de nucleótido único correspondiente dentro del codón sería GAA o GAG del ácido glutámico hacia GUA o GUG de valina. Está claro que esta mutación de sentido equivocado obstaculiza la función normal puesto que da por resultado anemia de células falciformes cuando el gen mutante está presente en el estado homocigoto. Puede considerarse que el cambio de glutamato a valina es parcialmente aceptable porque la hemoglobina S se une al oxígeno y lo libera, aunque de manera anormal.

Mutaciones de sentido equivocado inaceptables

Una mutación de sentido equivocado inaceptable (fig. 37-4, abajo) en un gen que codifica para hemoglobina, genera una molécula de hemoglobina no funcional. Por ejemplo, las mutaciones de hemoglobina M generan moléculas que permiten que el Fe^{2+} de la porción hem se oxide hacia Fe^{3+}, lo que produce metahemoglobina, que no puede transportar oxígeno (cap. 6).

Las mutaciones por cambio de cuadro se producen por deleción o inserción de nucleótidos en el DNA, que genera mRNA alterados

La deleción de un nucleótido único de la cadena codificadora de un gen da por resultado un cuadro de lectura alterado en el mRNA. La maquinaria que traduce el mRNA no reconoce que falta una base, puesto que no hay puntuación en la lectura de codones. De este modo se produce una alteración importante de la secuencia de aminoácidos polimerizados (fig. 37-5, ejemplo 1). Alterar el cuadro de lectura da por resultado una traducción incomprensible del mRNA en posición distal a la deleción de nucleótido único. La secuencia de aminoácidos en posición distal a esta deleción no sólo es incomprensible, sino que la lectura del mensaje también puede dar por resultado la aparición de un codón sin sentido y, así, la producción de un polipéptido tanto incomprensible como terminado de manera prematura (fig. 37-5, ejemplo 3).

Si tres nucleótidos de un múltiplo de tres se eliminan de una región codificadora, el mRNA correspondiente, cuando se traduce, proporcionará una proteína en la cual falta el número correspondiente de aminoácidos (fig. 37-5, ejemplo 2). Dado que el cuadro de lectura es un triplete, la fase de lectura no estará alterada para esos codones en posición distal a la deleción. Sin embargo, si hay deleción de uno o dos nucleótidos justo antes del codón de terminación normal o dentro del mismo (codón sin sentido), la lectura de la señal de terminación normal se altera. Esa deleción podría originar

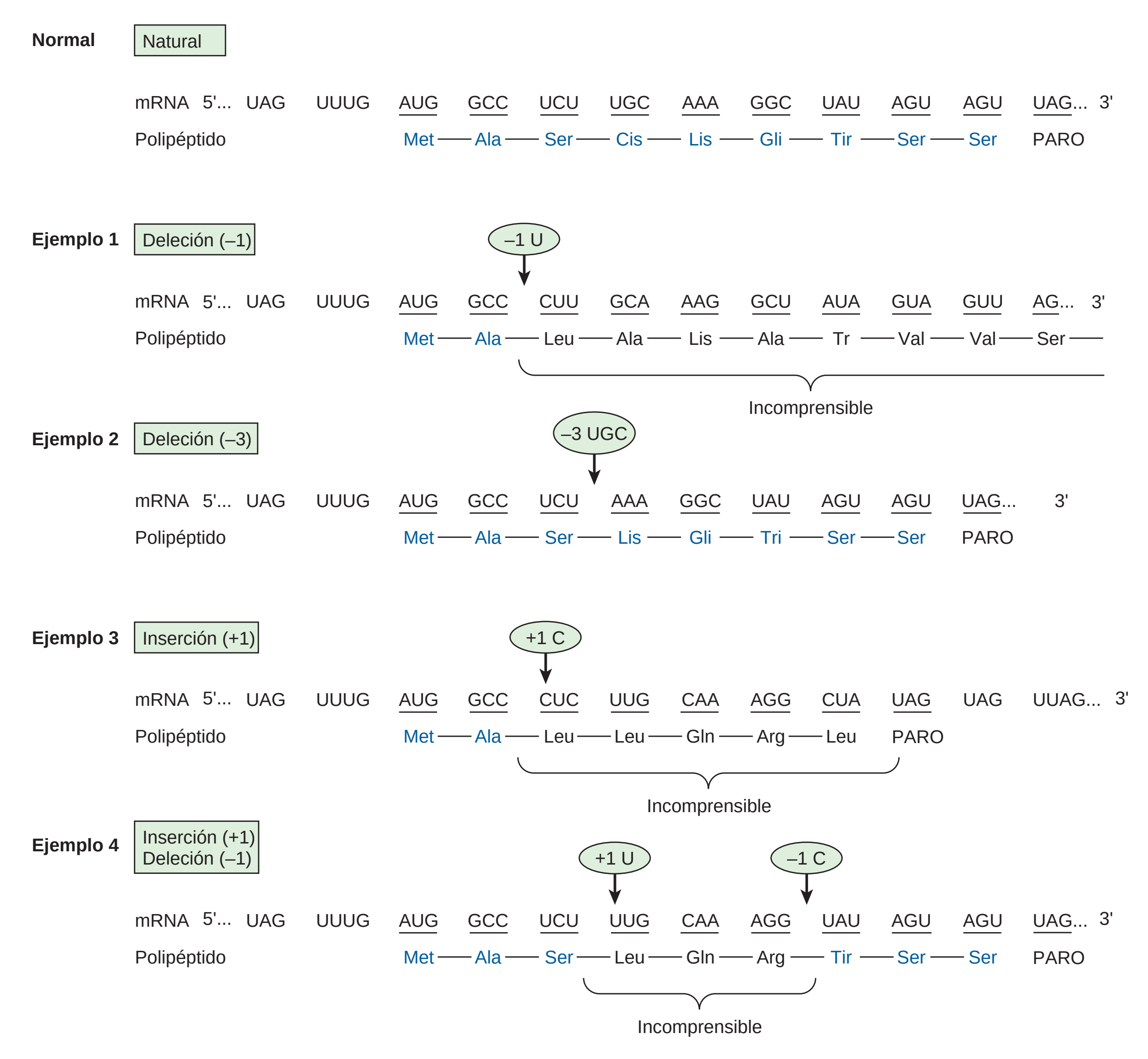


FIGURA 37-5 Ejemplos de los efectos de deleciones e inserciones en un gen sobre la secuencia de la transcripción de mRNA y la cadena polipeptídica traducida desde ese lugar. La flecha indica los sitios de deleciones o inserciones, y los números en los óvalos indican el número de residuos de nucleótido eliminados o insertados. El color azul en aminoácidos indica el orden correcto.

lectura a través de la señal de terminación ahora "mutada" en tanto no se encuentra otro codón sin sentido (fig. 37-5, ejemplo 1). Los ejemplos de este fenómeno se describen en exposiciones sobre hemoglobinopatías.

Las inserciones de uno o dos múltiplos de tres nucleótidos en un gen dan por resultado un mRNA en el cual el cuadro de lectura se deforma en el momento de la traducción, y los mismos efectos que ocurren con las deleciones se reflejan en la traducción del mRNA. Esto puede dar por resultado secuencias de aminoácido incomprensibles en posición distal a la inserción, y la generación de un **codón sin sentido** en la inserción o en posición distal a la misma, o quizá lectura a través del codón de terminación normal. Después de una deleción en un gen, una inserción (o viceversa), puede restablecer el cuadro de lectura apropiado (fig. 37-5, ejemplo 4). El mRNA correspondiente, cuando se tradujera, contendría una secuencia de aminoácido incomprensible entre la inserción y la deleción. Más allá del restablecimiento del cuadro de lectura, la secuencia de aminoácido sería correcta. Puede imaginarse que diferentes combinaciones de deleciones, de inserciones, o de ambas, darían por resultado la formación de una proteína en la cual una porción es anormal pero está rodeada por las secuencias de aminoácidos normales. Esos fenómenos se han demostrado de manera convincente en diversas enfermedades.

Las mutaciones supresoras pueden contrarrestar algunos de los efectos de las mutaciones de sentido equivocado, sin sentido, y por cambio de lectura

La exposición anterior de los productos proteínicos alterados de mutaciones de gen se basa en la presencia de moléculas de tRNA que funcionan normalmente. Sin embargo, en organismos procarióticos y en organismos eucarióticos inferiores se han descubierto moléculas de tRNA que funcionan de manera anormal, y que son

por sí mismas resultados de mutaciones. Algunas de estas moléculas de tRNA anormal tienen la capacidad de unirse a codones alterados, y de decodificarlos, lo que suprime los efectos de mutaciones en distintos genes estructurales que codifican para mRNA mutados. Estas **moléculas de tRNA supresor**, que por lo general se forman como resultado de alteraciones en sus regiones anticodón, tienen la capacidad de suprimir ciertas mutaciones de sentido equivocado, sin sentido, y por cambio de lectura. Sin embargo, dado que las moléculas de tRNA supresoras son incapaces de distinguir entre un codón normal y uno que se produce por una mutación de gen, su presencia en la célula microbiana por lo general da por resultado viabilidad disminuida. Por ejemplo, las moléculas de tRNA supresoras sin sentido pueden suprimir las señales de terminación normales para permitir una lectura continua cuando no es deseable. Las moléculas de tRNA supresoras de cambio de marco de lectura abierto pueden leer un codón normal más un componente de un codón yuxtapuesto para proporcionar un cambio de cuadro, también cuando es indeseable. Las moléculas de tRNA supresoras pueden existir en células de mamífero, dado que en ocasiones se ha observado lectura continua de la traducción.

AL IGUAL QUE LA TRANSCRIPCIÓN, LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA PUEDE DESCRIBIRSE EN TRES FASES: INICIO, ALARGAMIENTO Y TERMINACIÓN

Las características estructurales generales de los ribosomas y su proceso de automontaje se comentan en el capítulo 36. Estas entidades particuladas sirven como la maquinaria en la cual la secuencia de nucleótido del mRNA se traduce hacia la secuencia de aminoácidos de la proteína especificada. La traducción del mRNA comienza cerca de su terminal 5′, con la formación del amino terminal correspondiente de la molécula de proteína. El mensaje se lee de 5′ a 3′, y concluye con la formación del carboxilo terminal de la proteína. De nuevo, el concepto de **polaridad** queda de manifiesto. La transcripción de un gen hacia el mRNA correspondiente o su precursor forma primero la terminal 5′ de la molécula de RNA (cap. 36). En procariotas, esto permite el inicio de la traducción del mRNA antes de que se complete la transcripción del gen. En organismos eucarióticos, el proceso de transcripción es nuclear; la traducción del mRNA ocurre en el citoplasma. Esto evita la transcripción y traducción simultáneas en organismos eucarióticos, y hace posible el procesamiento necesario para generar mRNA maduro a partir de la transcripción primaria.

El inicio comprende varios complejos de proteína-RNA

El inicio de la síntesis de proteína requiere que un ribosoma seleccione una molécula de mRNA para traducción (fig. 37-6). Una vez que el mRNA se une al ribosoma, este último encuentra el cuadro de lectura correcto en el mRNA, y la traducción empieza. Este proceso comprende tRNA, rRNA, mRNA, y al menos 10 factores de inicio eucarióticos (eIF), algunos de los cuales tienen múltiples subunidades (3 a 8). También participan GTP, ATP y aminoácidos. El inicio puede dividirse en cuatro pasos: 1) disociación del ribosoma hacia las subunidades 40S y 60S; 2) unión de un complejo ternario que consta de met-tRNA^{i}, GTP y eIF-2 al ribosoma 40S para formar un complejo de preinicio; 3) unión de mRNA al complejo de preinicio 40S para formar un complejo de inicio 43S, y 4) combinación del complejo de inicio 43S con la subunidad ribosómica 60S para formar el complejo de inicio 80S.

Disociación ribosómica

Dos factores de inicio, eIF-3 y eIF-1A, se unen a la subunidad ribosómica 40S recién disociada. Esto retrasa su reasociación con la unidad 60S, y permite que otros factores de inicio de la traducción se asocien con la subunidad 40S.

Formación del complejo de preinicio 43S

El primer paso en este proceso comprende la unión de GTP por eIF-2. Este complejo binario a continuación se une a tRNA^{i} met, un tRNA que participa de manera específica en la unión al codón de inicio AUG. (Hay dos tRNA para metionina. Uno especifica metionina para el codón iniciador y el otro para metioninas internas. Cada uno tiene una secuencia de nucleótido singular; ambos son aminoacilados por la misma metionil RNA sintetasa.) Este complejo ternario se une a la subunidad ribosómica 40S para formar el complejo de preinicio 43S, que se estabiliza mediante asociación con eIF-3 y eIF-1A.

El eIF-2 es uno de los dos puntos de control para el inicio de síntesis de proteína en células eucarióticas. El eIF-2 consta de subunidades α, β y γ. El eIF-2 α es fosforilado (en la serina 51) por al menos cuatro proteínas cinasa diferentes (HCR, PKR, PERK y GCN2) que se activan cuando una célula está bajo estrés, y cuando el gasto de energía requerido para la síntesis de proteína sería perjudicial. Esas condiciones incluyen carencia acentuada de aminoácido y glucosa, infección por virus, presencia intracelular de cantidades grandes de proteínas plegadas de manera errónea, privación de suero, hiperosmolalidad y choque por calor. La proteína PKR es en particular interesante a este respecto. Esta cinasa es activada por virus, y proporciona un mecanismo de defensa del huésped que disminuye la síntesis de proteína, incluso la síntesis de proteína viral, lo que inhibe la replicación de virus. El eIF-2α fosforilado se une de manera estrecha a la proteína reciclante de GTP-GDP eIF-2B, y la inactiva, lo que evita la formación del complejo de preinicio 43S y bloquea la síntesis de proteína.

Formación del complejo de inicio 43S

Las terminales 5′ de casi todas las moléculas de mRNA en células eucarióticas están “cubiertas” (cap. 36). Esta cubierta de metil-guanosil trifosfato facilita la unión del mRNA al complejo de preinicio 43S. Un complejo de proteína de unión a región cubierta 5′, eIF-4F (4F), que consta de eIF-4E (4E) y el complejo eIF-4G (4G)-eIF4A (4A), se une a la cubierta por medio de la proteína 4E. A continuación, eIF-4B (4B) se une a, y reduce, la estructura secundaria compleja del extremo 5′ del mRNA por medio de actividades de ATPasa y de helicasa dependiente de ATP. La asociación del mRNA con el complejo de preinicio 43S para formar el complejo de inicio 48S requiere hidrólisis de ATP. El eIF-3 es una proteína clave porque se une con alta afinidad al componente 4G de 4F, y enlaza este complejo a la subunidad ribosómica 40S. Después de la asociación del complejo de preinicio 43S con la cubierta de mRNA, y reducción

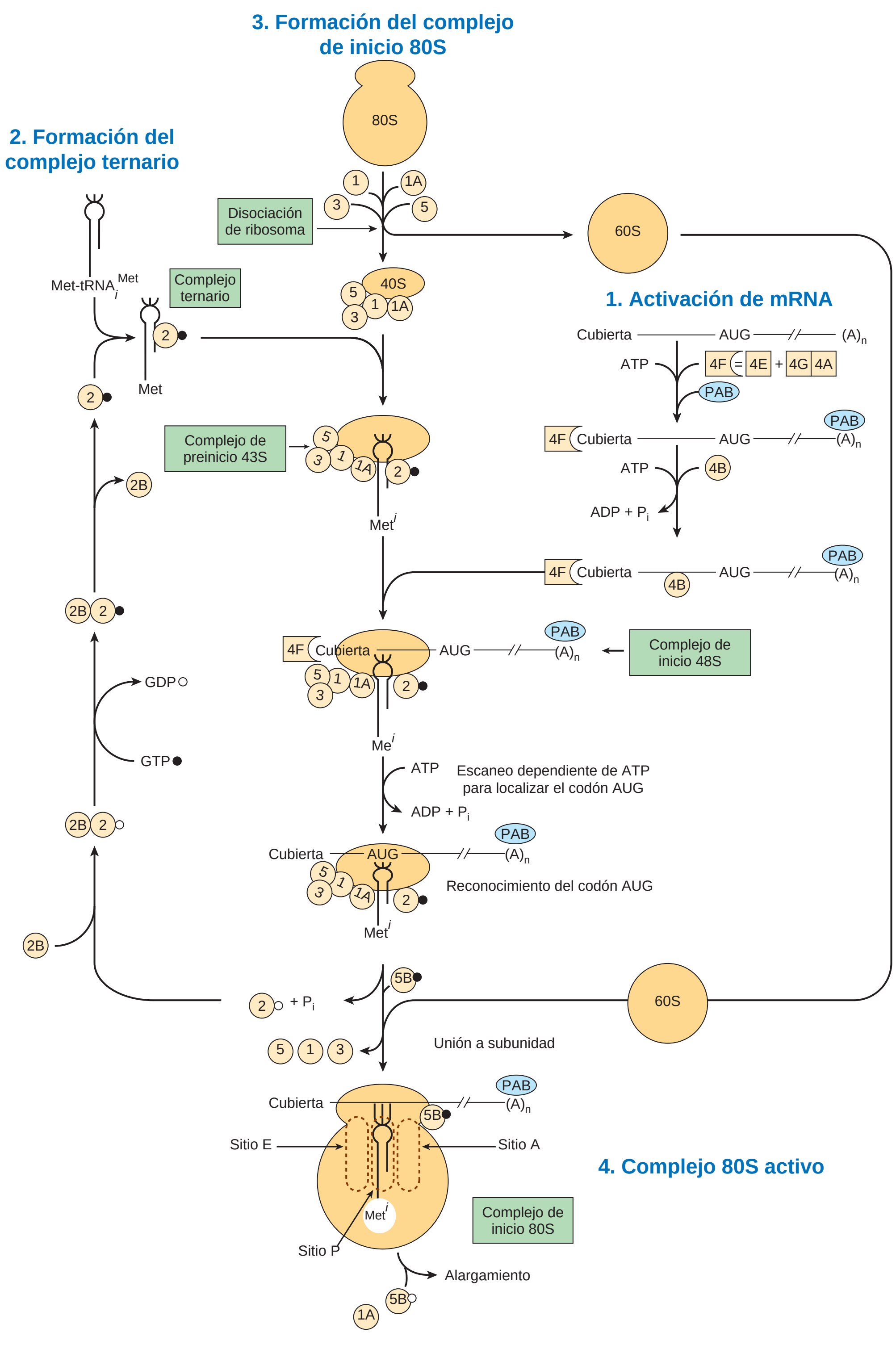


FIGURA 37-6 Representación esquemática de la fase de inicio de la síntesis de proteína en una plantilla de mRNA eucariótico que contiene una cubierta 5' (cubierta) y una terminal 3' poli(A) [$(A)_n$]. Este proceso se efectúa en varios pasos: 1) activación del mRNA **(derecha)**; 2) formación del complejo ternario que consta de tRNAmet^i, factor de inicio eIF-2, y GTP **(izquierda)**; 3) escaneo en el complejo 43S para localizar el codificador iniciador AUG, lo que forma el complejo de inicio 48S **(centro)**, y 4) formación del complejo de inicio 80S activo **(abajo, centro)**. (Véanse los detalles en el texto.) (GTP, •; GDP, ∘.) Los diversos factores de inicio aparecen en forma abreviada como círculos o cuadrados, por ejemplo, eIF-3, ( ), eIF- 4F, (4F), (4F). 4·F es un complejo que consta de 4E y 4A unidos a 4G (fig. 37-7). La proteína de unión de poli A, que interactúa con el mRNA cola 3'-poli(A), se abrevia PAB. El conjunto de factores de proteína y la subunidad ribosómica 40S comprenden el complejo de preinicio 43S. Cuando está unido a mRNA, esto forma el complejo de preinicio 48S.

("fusión") de la estructura secundaria cerca del extremo 5′ del mRNA por medio de la acción de la helicasa 4B y ATP, el complejo transloca 5′ → 3′ y escanea el mRNA para buscar un codón de inicio idóneo. Por lo general éste es el AUG más 5′, pero el codón de inicio preciso está determinado por las llamadas **secuencias de consenso Kozak** que rodean al AUG:

```
 −3    −1    +4
  |     |
GCCA/ GCCAUGG
```

Se prefiere más la presencia de una purina en las posiciones −3 y +4 respecto al AUG.

Función de la cola poli(A) en el inicio

Experimentos bioquímicos y genéticos en levaduras han revelado que la cola 3′ poli(A) y su proteína de unión, PAB1, se requieren para el inicio eficiente de la síntesis de proteína. Estudios adicionales mostraron que la cola poli(A) estimula el reclutamiento de la subunidad ribosómica 40S al mRNA por medio de una serie compleja de interacciones. La PAB1 (fig. 37-7), unida a la cola poli(A), interactúa con eIF-4G, y la subunidad 4E de eIF-4F que está unido a la cubierta. Se forma una estructura circular que ayuda a dirigir la subunidad ribosómica 40S al extremo 5′ del mRNA y probablemente también estabiliza a los mRNA contra degradación exonucleolítica. Esto ayuda a explicar por qué las estructuras de cubierta y cola poli(A) tienen un efecto sinérgico sobre la síntesis de proteína. De hecho, interacciones proteína-proteína diferenciales entre represores de la traducción del mRNA generales y específicos, y el eIF-4 dan por resultado control de la traducción dependiente de m^7GCap (fig. 37-8).

Formación del complejo de inicio 80S

La unión de la subunidad ribosómica 60S al complejo de inicio 48S comprende hidrólisis del GTP unido al eIF-2 por eIF-5. Esta reacción origina la liberación de los factores de inicio unidos al complejo de inicio 48S (estos factores a continuación se reciclan), y la asociación rápida de las subunidades 40S y 60S para formar el ribosoma 80S. En este punto, el met-$tRNA^i$ está sobre el sitio P del ribosoma, listo para que comience el ciclo de alargamiento.

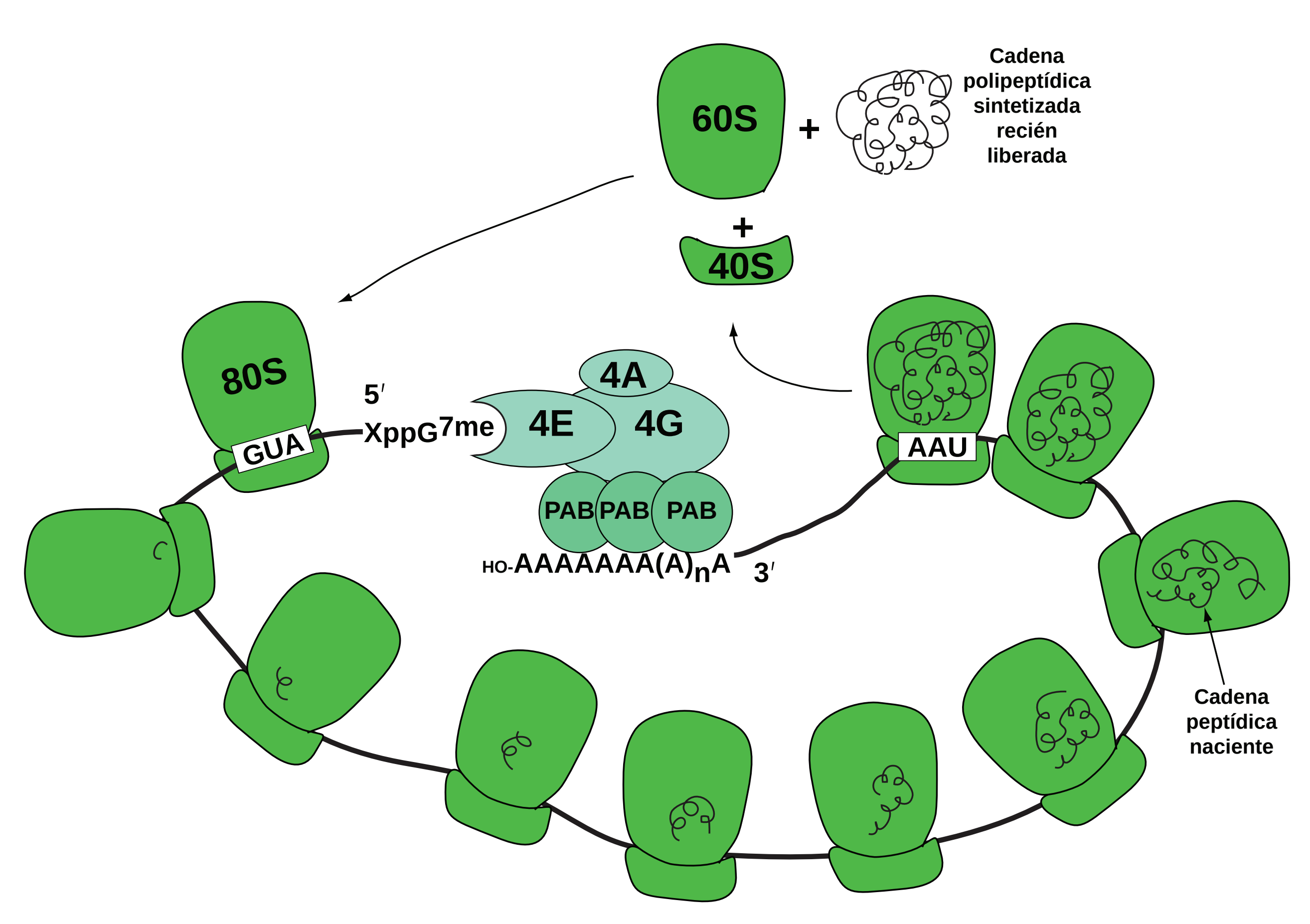


FIGURA 37-7 Esquema que ilustra la circularización del mRNA por medio de interacciones entre una proteína y otra entre eIF4F unido a m^7G y proteína de unión a Poli(A) unida a cola poli(A). El eIF4F, compuesto de subunidades eIF4A, 4E y 4G se une con alta afinidad a la "cubierta" 5'-m7G mRNA (-$XpppG^{7me}$) torrente arriba del codón de inicio de traducción (AUG). La subunidad eIF4G del complejo también se une con alta afinidad a la proteína de unión Poli(A) (PAB). Dado que la PAB está unida de manera estrecha a la cola 3'-poli(A) mRNA (OH-AAAAAAA$(A)_n$A), el resultado es circularización. Se muestran múltiples ribosomas 80S que están en el proceso de traducción del mRNA circularizado hacia proteína (líneas enroscadas de color negro), lo que forma un polisoma. En el momento de encontrar un codón de terminación (UAA), termina la traducción, lo que lleva a liberación y disociación del ribosoma 80S hacia subunidades 60S, 40S y proteína recién traducida. Las subunidades ribosómicas disociadas pueden reciclarse por otra ronda de traducción (fig. 37-6).

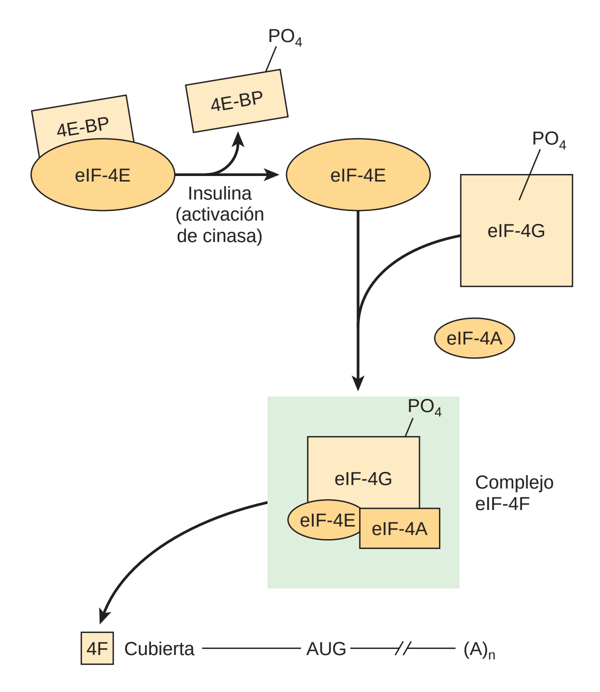


FIGURA 37-8 Activación de eIF-4E por la insulina, y formación de la cubierta que une al complejo eIF-4F. El complejo de cubierta 4F mRNA se describe como en las figuras 37-6 y 37-7. El complejo 4F consta de eIF-4E (4E), eIF-4A y eIF-4G. 4E es inactivo cuando es unido por una de una familia de proteínas de unión (4EBP). La insulina y los factores mitogénicos (p. ej., IGF-1, PDGF, interleucina-2 y angiotensina II) activan a las vías de PI3 cinasa/AKT cinasa, lo que activa a la mTOR cinasa, y da por resultado la fosforilación de 4E-BP. El 4E-BP fosforilado se disocia de 4E, y a continuación este último es capaz de formar el complejo 4F y unirse a la cubierta del mRNA. Estos péptidos de crecimiento también inducen fosforilación del 4G mismo por las vías de mTOR y MAP cinasa. El 4F fosforilado se une con mucho mayor avidez a la cubierta que el 4F no fosforilado.

La regulación de eIF-4E controla el índice de inicio

El complejo 4F es en particular importante en el control del índice de traducción de proteína. Como se describió, 4F es un complejo que consta de 4E, que se une a la estructura de cubierta m^7G en el extremo 5′ del mRNA, y 4G, que sirve como una proteína de andamiaje. Además de unirse a 4E, 4G se une a eIF-3, que enlaza el complejo a la subunidad ribosómica 40S. También se une a 4A y 4B, el complejo de ATPasa-helicasa que ayuda a desenrollar el RNA (fig. 37-8).

4E se encarga del reconocimiento de la estructura de cubierta del mRNA, un paso limitante en la traducción. Este proceso se regula más por medio de fosforilación. La insulina y factores de crecimiento mitogénicos dan por resultado la fosforilación de 4E sobre ser 209 (o tr 210). 4E fosforilado se une a la cubierta con mucho más avidez que la forma no fosforilada, lo que aumenta el índice de inicio. Un componente de la vía de la MAP cinasa (fig. 42-8) parece participar en esta reacción de fosforilación.

La actividad de 4E está regulada en una segunda vía, y ésta también comprende fosforilación. Una serie de proteínas recién descubiertas se unen a 4E y lo desactivan. Estas proteínas comprenden 4E-BP1 (BP1, también conocida como PHAS-1) y las proteínas estrechamente relacionadas 4E-BP2 y 4E-BP3. BP1 se une con alta afinidad a 4E. La asociación [4E]•[BP1] evita que 4E se una a 4G (para formar 4F). Dado que esta interacción es esencial para la unión de 4F a la subunidad ribosómica 40S, y para colocar de manera correcta esto sobre el mRNA cubierto, BP-1 inhibe con eficacia el inicio de la traducción.

La insulina y otros factores de crecimiento dan por resultado la fosforilación de BP-1 en siete sitios únicos. La fosforilación de BP-1 da por resultado su disociación de 4E, y no puede volver a unirse sino hasta que se desfosforilan sitios cruciales. Estos efectos sobre la activación de 4E explican en parte de qué modo la insulina causa un notorio aumento postranscripcional de la síntesis de proteína en el hígado, el tejido adiposo y el músculo.

El alargamiento también es un proceso de múltiples pasos, facilitado por factor accesorio

El alargamiento es un proceso cíclico en el ribosoma, en el cual un aminoácido a la vez se añade a la cadena peptídica naciente (fig. 37-9). La secuencia peptídica está determinada por el orden de los codones en el mRNA. El alargamiento comprende varios pasos catalizados por proteínas llamadas factores de alargamiento (EF). Estos pasos son: 1) unión de aminoacil-tRNA al sitio A; 2) formación de enlace peptídico, y 3) translocación del ribosoma sobre el mRNA.

Unión de aminoacil-tRNA al sitio A

En el ribosoma 80S completo que se forma durante el proceso de inicio, tanto el sitio A (sitio aminoacilo o aceptor) como el E (sitio de salida del tRNA desacilado) están libres. La unión del aminoacil-tRNA apropiado en el sitio A requiere reconocimiento de codón apropiado. El **factor de alargamiento EF1A** forma un complejo ternario con GTP y el aminoacil-tRNA que está entrando (fig. 37-9). A continuación, este complejo permite que el aminoacil-tRNA correcto entre al sitio A con la liberación de EF1A•GDP y fosfato. La hidrólisis de GTP es catalizada por un sitio activo en el ribosoma; la hidrólisis induce un cambio conformacional en el ribosoma, lo que aumenta de manera concomitante la afinidad por el tRNA. El EF1A-GDP se recicla entonces hacia EF1A-GTP, con la ayuda de otros factores proteínicos solubles y GTP.

Formación de enlace peptídico

El grupo α-amino del nuevo aminoacil-tRNA lleva a cabo un ataque nucleofílico sobre el grupo carboxilo esterificado del peptidil-tRNA que ocupa el sitio P (sitio peptidilo o polipéptido). En el momento del inicio, este sitio está ocupado por aminoacil-tRNA met^i. Esta reacción es catalizada por una **peptidiltransferasa**, un componente del RNA 28S de la subunidad ribosómica 60S. Éste es otro ejemplo de actividad de ribozima, e indica una función directa importante —y previamente no sospechada— para el RNA en la síntesis de proteína (cuadro 37-3). Dado que el aminoácido en el aminoacil-tRNA ya está “activado”, no se requiere una fuente de energía adicional para esta reacción. La reacción da por resultado la fijación de la cadena peptídica en crecimiento al tRNA en el sitio A.

CUADRO 37-3 Evidencia de que el rRNA es peptidiltransferasa

• Los ribosomas pueden hacer enlaces peptídicos incluso cuando las proteínas se eliminan o desactivan.
• Ciertas partes de la secuencia del rRNA están muy conservadas en todas las especies.
• Estas regiones conservadas están en la superficie de la molécula de RNA.
• El RNA puede ser catalítico.
• Las mutaciones que dan por resultado resistencia a antibiótico en el ámbito de la síntesis de proteína se encuentran más a menudo en el rRNA que en los componentes proteínicos del ribosoma.
• La estructura cristalina en rayos X de subunidad grande unida a tRNA sugiere un mecanismo detallado.

Translocación

El tRNA ahora desacilado se fija mediante su anticodón al sitio P en un extremo y mediante la cola CCA abierta a un **sitio de salida (exit) (E)** en la subunidad ribosómica grande (fig. 37-8, en medio). En este punto, el **factor de alargamiento 2 (EF2)** se une al peptidil-tRNA y lo desplaza del sitio A al sitio P. A su vez, el tRNA desacilado está en el sitio E, desde el cual abandona el ribosoma. El complejo EF2-GTP se hidroliza hacia EF2-GDP, lo que mueve con eficacia el mRNA hacia adelante un codón, y deja el sitio A abierto para ocupación por otro complejo ternario de tRNA aminoácido-EF1AGTP y otro sitio de alargamiento.

La carga de la molécula de tRNA con la porción aminoacilo requiere la hidrólisis de un ATP hacia un AMP, equivalente a la hidrólisis de dos ATP hacia dos ADP y fosfatos. La entrada del aminoacil-tRNA al sitio A da por resultado la hidrólisis de un GTP hacia GDP. La translocación del peptidil-tRNA recién formado en el sitio A hacia el sitio P por EF2 origina de manera similar hidrólisis de GTP hacia GDP y fosfato. De este modo, los requerimientos de energía para la formación de un enlace peptídico incluyen el equivalente de la hidrólisis de dos moléculas de ATP hacia ADP, y de dos moléculas de GTP hacia GDP, o la hidrólisis de cuatro enlaces de fosfato de alta energía. Un ribosoma eucariótico puede incorporar hasta seis aminoácidos por segundo; los ribosomas procarióticos incorporan hasta 18 por segundo. De este modo, el proceso de síntesis de péptido que requiere energía ocurre con gran rapidez y exactitud en tanto no se llega a un codón de terminación.

FIGURA 37–9 Representación esquemática del proceso de alargamiento de péptido de la síntesis de proteína. Los círculos pequeños etiquetados n − 1, n, n + 1, etc., representan los residuos aminoácido de la molécula de proteína recién formada, y codones correspondientes en el mRNA. EFIA y EF2 representan los factores de alargamiento 1 y 2, respectivamente. El peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y los sitios de salida (Exit) en el ribosoma están representados por el sitio P, el sitio A y el sitio E, respectivamente.

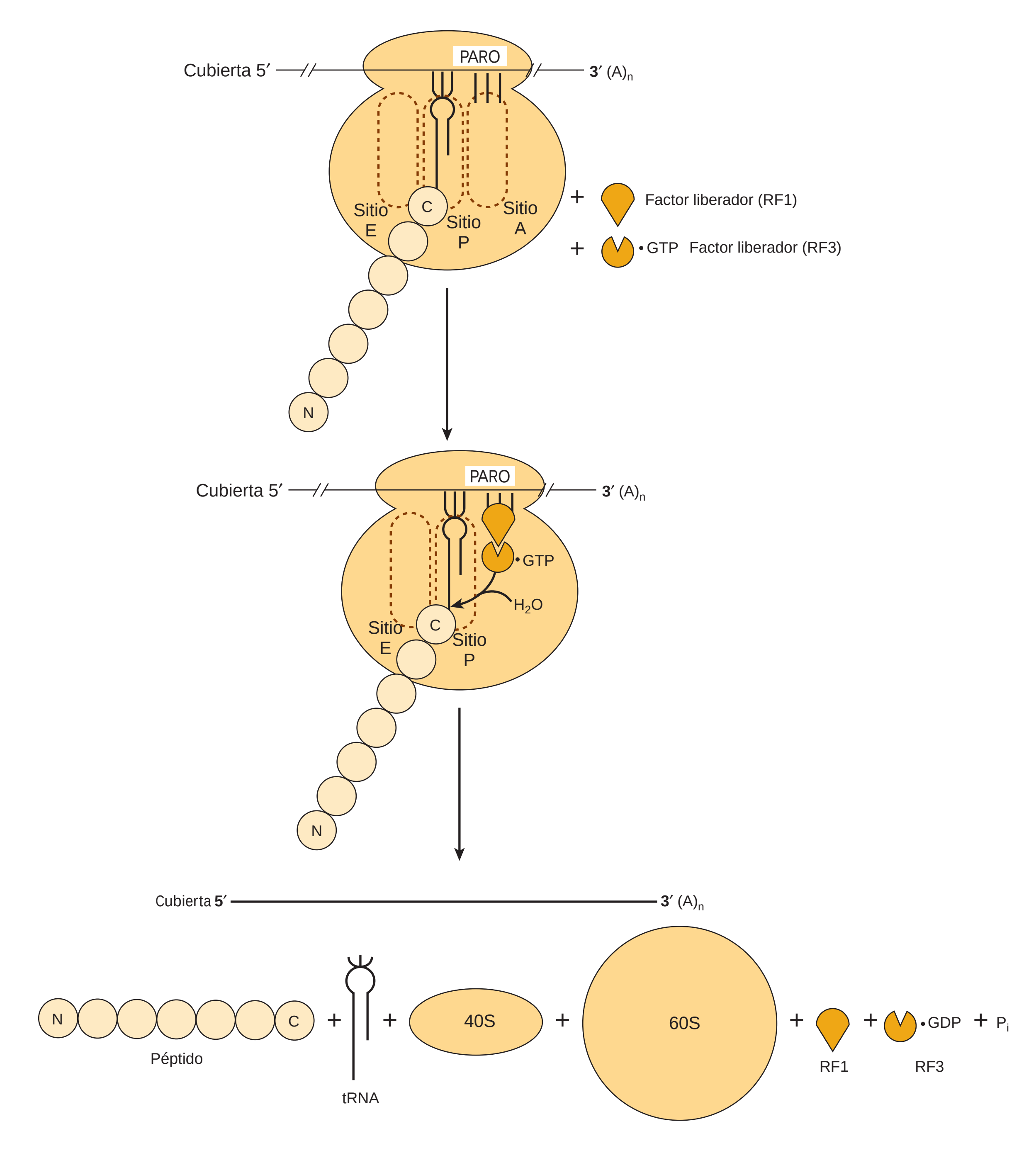


FIGURA 37-10 Representación esquemática del proceso de terminación de la síntesis de proteína. Los sitios peptidil-tRNA, aminoacil-tRNA y de salida (exit) están indicados como sitio P, sitio A y sitio E, respectivamente. El codón de terminación (de paro) está indicado por las tres barras verticales y paro. El factor liberador RF1 se une al codón de paro. El factor liberador RF3, con GTP unido, se une a RF1. La hidrólisis del complejo peptidil-tRNA se muestra mediante la entrada de H_2O. N y C indican los aminoácidos amino y carboxilo terminales de la cadena polipeptídica naciente, respectivamente, e ilustran la polaridad de la síntesis de proteína.

La terminación ocurre cuando se reconoce un codón de paro

En comparación con el inicio y el alargamiento, la terminación es un proceso relativamente simple (fig. 37-10). Después de que múltiples ciclos de alargamiento culminan en polimerización de aminoácidos específicos hacia una molécula de proteína, aparece en el sitio A el codón de paro o de terminación del mRNA (UUA, UAG, UGA). En circunstancias normales, no hay tRNA con un anticodón capaz de reconocer esa señal de terminación. El **factor liberador RF1** reconoce que un codón de parada reside en el sitio A (fig. 37-10). RF1 es unido por un complejo que consta del **factor de liberación**

RF3 con GTP unido. Este complejo, con la peptidil transferasa, promueve la hidrólisis del enlace entre el péptido y el tRNA que ocupa el sitio P. De este modo, se añade una molécula de agua en lugar de un aminoácido. Esta hidrólisis libera la proteína y el tRNA del sitio P. En el momento de la hidrólisis y liberación, el **ribosoma 80S se disocia** hacia sus subunidades 40S y 60S, que entonces se reciclan (fig. 37-7). Por ende, los factores de liberación son proteínas que hidrolizan el enlace peptidil-tRNA cuando un codón de paro ocupa el sitio A. A continuación, el mRNA se libera del ribosoma, que se disocia hacia las subunidades 40S y 60S que lo componen, y puede repetirse otro ciclo.

Los polisomas son montajes de ribosomas

Muchos ribosomas pueden traducir la misma molécula de mRNA de manera simultánea. Debido a su tamaño relativamente grande, las partículas de ribosoma no se pueden fijar a un mRNA con menos de 35 nucleótidos de separación. Múltiples ribosomas en la misma molécula de mRNA forman un **polirribosoma**, o "polisoma" (fig. 37-7). En un sistema no restringido, el número de ribosomas fijos a un mRNA (y, así, el tamaño de los polirribosomas) tiene correlación positiva con la longitud de la molécula de mRNA.

Los polirribosomas que están sintetizando de manera activa proteínas pueden existir como partículas libres en el citoplasma celular, o estar fijos a hojas de material citoplásmico membranoso denominadas **retículo endoplásmico**. El aspecto "rugoso" que se observa en la microscopia electrónica depende de la fijación de los ribosomas articulados al retículo endoplásmico. Las proteínas sintetizadas por los ribosomas fijos se sacan hacia el espacio de la cisterna entre las hojas del retículo endoplásmico rugoso, y se exportan desde ahí. El aparato de Golgi aglomera algunos de los productos proteínicos del retículo endoplásmico rugoso hacia partículas de zimógeno para exportación final (cap. 46). Las partículas polirribosómicas libres en el citosol se encargan de la síntesis de proteínas requeridas para las funciones intracelulares.

Los mRNA que no se están traduciendo pueden formar partículas de ribonucleoproteína que se acumulan en organelos citoplásmicos llamados cuerpos P

Los mRNA, unidos por proteínas chaperonas específicas, y exportados desde el núcleo como partículas de ribonucleoproteínas (RNP), a veces no se asocian de inmediato con ribosomas para ser traducidos. En lugar de eso, mRNA específicos pueden asociarse con los constituyentes proteínicos que forman los cuerpos P, pequeños compartimientos densos que incorporan mRNA como mRNP (fig. 37-11).

Estos organelos citoplásmicos se relacionan con gránulos que contienen mRNA pequeños similares que se encuentran en neuronas y ciertas células maternas. Los cuerpos P son sitios de represión de la traducción y de descomposición del mRNA. Se ha sugerido que más de 35 proteínas distintas residen de manera exclusiva o extensa dentro de los cuerpos P. Estas proteínas varían desde enzimas que descubren el mRNA, RNA helicasas y RNA exonucleasas (5′ a 3′ y 3′ a 5′), hasta componentes involucrados en la función del miRNA y en el control de calidad del mRNA. Sin embargo, la incorporación en una mRNP no es una "sentencia de muerte" inequívoca del mRNA. De hecho, aunque todavía no se entienden por completo los mecanismos, ciertos mRNA parecen almacenarse temporalmente en los cuerpos P y después recuperarse y utilizarse para la traducción de proteína. Esto sugiere que hay un equilibrio donde las funciones citoplásmicas del mRNA (traducción y degradación) son controladas por la interacción dinámica del mRNA con polisomas y cuerpos P.

La maquinaria de la síntesis de proteína puede mostrar respuesta a amenazas ambientales

La **ferritina,** una proteína de unión a hierro, evita que el hierro ionizado (Fe^{2+}) alcance concentraciones tóxicas dentro de las células. El hierro elemental estimula la síntesis de ferritina al causar la liberación de una proteína citoplásmica que se une a una región específica en la región 5′ no traducida del mRNA de ferritina. La alteración de esta interacción entre proteína y mRNA activa al mRNA de ferritina, y da por resultado su traducción. Este mecanismo proporciona control rápido de la síntesis de una proteína que secuestra Fe^{2+}, una molécula en potencia tóxica.

Muchos virus se apropian de la maquinaria de síntesis de proteína de la célula huésped

La maquinaria de síntesis de proteínas también puede modificarse de maneras perjudiciales. Los **virus se replican usando los procesos de la célula huésped**, incluso los involucrados en la síntesis de proteína. Algunos mRNA virales se traducen con mucho mayor eficiencia que los de la célula huésped (p. ej., virus de la encefalomiocarditis). Otros, como los reovirus y el virus de la estomatitis vesicular, se replican abundantemente, y sus mRNA tienen una ventaja competitiva sobre los mRNA de la célula huésped para factores de traducción limitados. Otros virus inhiben la síntesis de proteína por la célula huésped al evitar la asociación de mRNA con el ribosoma 40S.

El poliovirus y otros picornavirus adquieren una ventaja selectiva al alterar la función del complejo 4F. Los mRNA de estos virus carecen de una estructura de cubierta para dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S (véase antes). En lugar de eso, dicha subunidad entra en contacto con un **sitio interno de entrada al ribosoma (IRES)** en una reacción que requiere 4G pero no 4E. El virus adquiere una ventaja selectiva al tener una proteasa que ataca a 4G y elimina el sitio de unión a 4E amino terminal. Ahora, es imposible que se forme el complejo 4E-4G (4F), de modo que la subunidad ribosómica 40S no puede dirigirse hacia mRNA cubiertos. De este modo se suprime la traducción de la célula huésped. El fragmento 4G puede dirigir la unión de la subunidad ribosómica 40S a mRNA que contienen IRES, de modo que la traducción del mRNA viral es muy eficiente (fig. 37-12). Estos virus también promueven la desfosforilación de BP1 (PHAS-1), lo que disminuye la traducción dependiente de cubierta (4E).

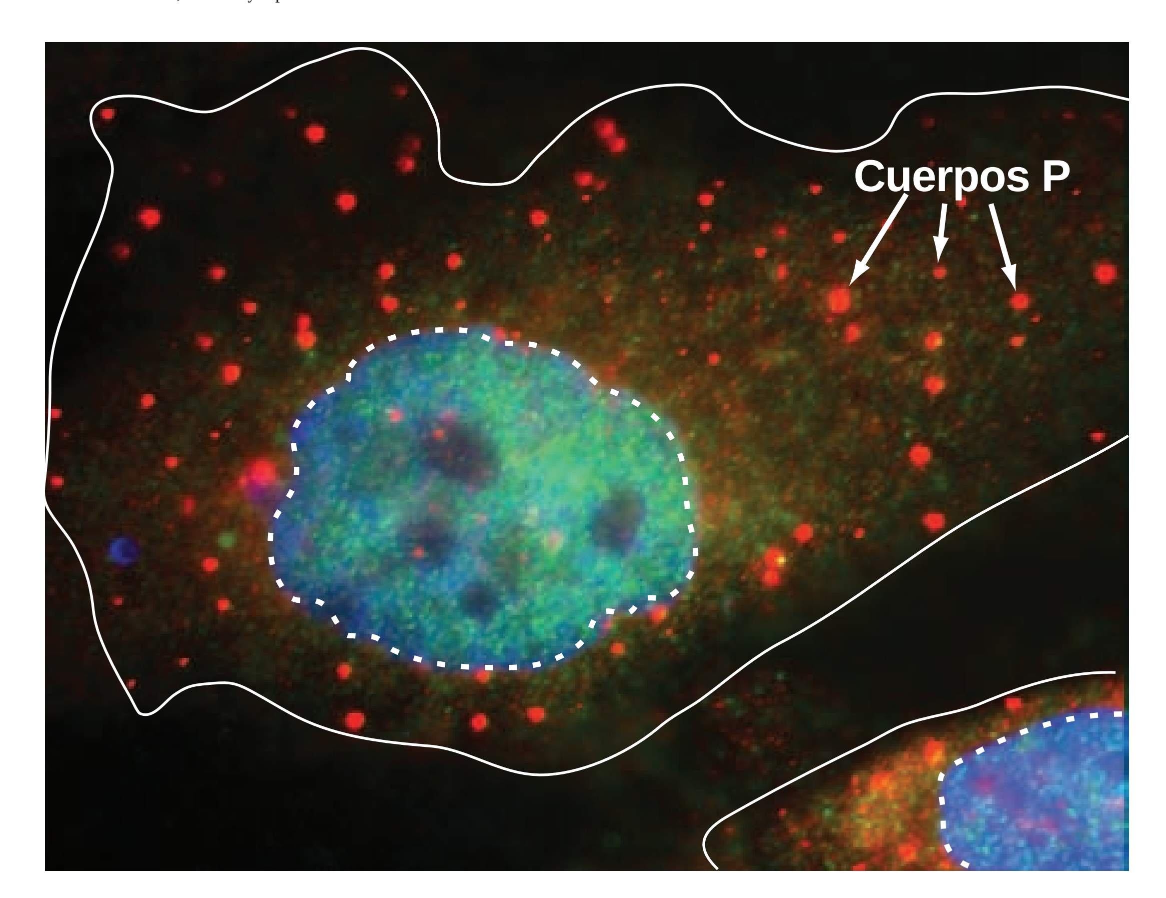


FIGURA 37-11 El cuerpo P es un organelo citoplásmico que modula el metabolismo del mRNA. Se muestra una fotomicrografía de dos células de mamífero en las cuales un constituyente proteínico separado único del cuerpo P se ha visualizado usando el anticuerpo marcado con fluorescencia específico cognado. Los cuerpos P aparecen como círculos luminosos de tamaño variable en todo el citoplasma. Las membranas celulares están indicadas por una línea continua de color blanco, y los núcleos, mediante una línea discontinua. Los núcleos se contratiñeron usando un colorante fluorescente con diferentes espectros de excitación/emisión de fluorescencia desde el anticuerpo marcado usado para identificar cuerpos P; el colorante nuclear se intercala entre pares de base de DNA. Modificada de http://www.mcb.arizona.edu/parker/WHAT/what.htm. (Usada con autorización del Dr. Roy Parker.)

EL PROCESAMIENTO POSTRADUCCIONAL AFECTA LA ACTIVIDAD DE MUCHAS PROTEÍNAS

Algunos virus de animales, entre los que destacan el VIH, el poliovirus y el virus de la hepatitis A, sintetizan proteínas policistrónicas largas a partir de una molécula de mRNA larga. Las moléculas de proteína traducidas a partir de estos mRNA largos después se dividen en sitios específicos para proporcionar las varias proteínas específicas requeridas para la función viral. En células de animales, muchas proteínas celulares se sintetizan a partir de la plantilla de mRNA como una molécula precursora, que después debe modificarse para lograr la proteína activa. El prototipo es la insulina, molécula pequeña que tiene dos cadenas polipeptídicas con puentes disulfuro intercadena e intracadena. La molécula se sintetiza como un precursor de cadena única, o **prohormona**, que se pliega para permitir que se formen los puentes disulfuro. A continuación una proteasa específica recorta el segmento que conecta las dos cadenas, lo que forma la molécula de insulina funcional (fig. 41-12).

Muchos otros péptidos se sintetizan como proproteínas que requieren modificaciones antes de alcanzar actividad biológica. Muchas de las modificaciones postraduccionales comprenden la eliminación de residuos aminoácido amino terminal por aminopeptidasas específicas. El colágeno, una proteína abundante en los espacios extracelulares de eucariotas superiores, se sintetiza como procolágeno. Tres moléculas polipeptídicas de procolágeno, a menudo con secuencia no idéntica, se alinean a sí mismas de una manera particular que depende de la existencia de péptidos amino terminales específicos. A continuación enzimas específicas llevan a cabo hidroxilaciones y oxidaciones de residuos aminoácido específicos dentro de las moléculas de procolágeno para proporcionar enlaces covalentes para mayor estabilidad. Los péptidos amino terminal se eliminan de la molécula para formar el producto final, una molécula de colágeno fuerte e insoluble. Ocurren muchas otras modificaciones postraduccionales de proteínas. Por ejemplo, la modificación covalente por medio de acetilación, fosforilación, metilación, ubiquitilación y glucosilación, es frecuente.

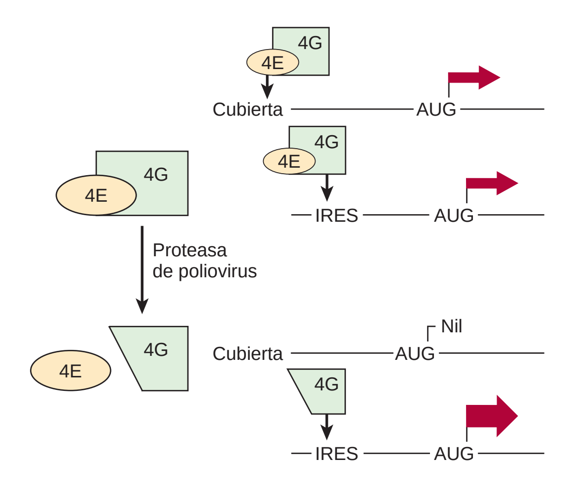


FIGURA 37-12 Los picornavirus alteran el complejo 4F. El complejo 4E-4G (4F) dirige la subunidad ribosómica 40S hacia el mRNA cubierto típico (véase el texto). 4G solo es suficiente para dirigir la subunidad 40S hacia el sitio de entrada ribosómico interno (IRES) de mRNA virales. Para obtener ventaja selectiva, ciertos virus (p. ej., poliovirus) expresan una proteasa que divide el sitio de unión a 4E desde el extremo aminoterminal de 4G. Este 4G truncado puede dirigir la subunidad ribosómica 40S hacia mRNA que tienen un IRES, pero no hacia los que tienen una cubierta. Las anchuras de las flechas indican el índice de inicio de la traducción desde el codón AUG en cada ejemplo.

FIGURA 37-13 Las estructuras comparativas del antibiótico puromicina (arriba) y la porción 3' terminal del tirosinil-tRNA (abajo).

MUCHOS ANTIBIÓTICOS TRABAJAN AL INHIBIR DE MANERA SELECTIVA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA EN BACTERIAS

Los ribosomas en bacterias y en las mitocondrias de células eucarióticas superiores difieren del ribosoma de mamífero descrito en el capítulo 34. El ribosoma bacteriano es de menor tamaño (70S en lugar de 80S), y tiene una dotación diferente, un poco más sencilla, de RNA y moléculas de proteína. Esta diferencia se explota para propósitos clínicos, porque muchos antibióticos eficaces interactúan de manera específica con las proteínas y los RNA de ribosomas procarióticos y, así, inhiben la síntesis de proteína. Esto da por resultado un bloqueo del crecimiento o muerte de la bacteria. Los miembros más útiles de esta clase de antibióticos (p. ej., tetraciclinas, lincomicina, eritromicina y cloranfenicol) no interactúan con componentes de ribosomas eucarióticos y, así, no son tóxicos para eucariotas. La tetraciclina evita la unión de aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma bacteriano. El cloranfenicol y la clase macrólido de antibióticos funcionan al unirse a RNA 23S, lo cual es interesante en vista de la participación recién apreciada del rRNA en la formación de enlace peptídico por medio de su actividad de peptidil transferasa. Es necesario mencionar que la estrecha similitud entre ribosomas procarióticos y mitocondriales puede llevar a complicaciones en el uso de algunos antibióticos.

Otros antibióticos inhiben la síntesis de proteína en todos los ribosomas **(puromicina)** o sólo en los de células eucarióticas **(cicloheximida)**. La puromicina (fig. 37-13) es un análogo estructural del tirosinil-tRNA. La puromicina se incorpora por medio del sitio A en el ribosoma hacia la posición carboxilo terminal de un péptido, pero causa la liberación prematura del polipéptido. La puromicina, como un análogo del tirosinil-tRNA, inhibe con eficacia la síntesis de proteína tanto en procariotas como en eucariotas. La cicloheximida inhibe la peptidil transferasa en la subunidad ribosómica 60S en eucariotas, probablemente al unirse a un componente de rRNA.

La **toxina diftérica**, una exotoxina de *Corynebacterium diphtheriae* infectada por un fago lisogénico específico, cataliza la ADP-ribosilación de EF-2 en el aminoácido diftamida único en células de mamífero. Esta modificación desactiva a EF-2 y, así, inhibe la síntesis de proteína de mamífero. Muchos animales (p. ej., los ratones) son resistentes a la toxina diftérica. Esta resistencia se debe a incapacidad de dicha toxina para cruzar la membrana celular, más que a insensibilidad del EF-2 de ratón a la ADP-ribosilación por NAD catalizada por la toxina diftérica.

La ricina, una molécula en extremo tóxica que se aísla a partir del ricino, desactiva el RNA ribosómico 28S eucariótico al proporcionar la división N-glucolítica o eliminación de una adenina única.

Muchos de estos compuestos —la puromicina y cicloheximida en particular— carecen de utilidad clínica, pero han tenido importancia en la dilucidación de la participación de la síntesis de proteína en la regulación de procesos metabólicos, en particular inducción de enzima por hormonas.

RESUMEN

- El ujo de información genética sigue la secuencia DNA → RNA → proteína.
- La información genética en la región estructural de un gen se transcribe hacia una molécula de RNA, de modo que la secuencia de esta última es complementaria a la que hay en el DNA.
- El RNA ribosómico (rRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA mensajero (mRNA) participan de manera directa en la síntesis de proteína; los miRNA regulan la función del mRNA en el ámbito de la traducción, la estabilidad, o ambas.
- La información en el mRNA es una disposición de codones en tándem, cada uno de los cuales tiene tres nucleótidos de largo.
- El mRNA se lee de manera continua desde un codón de inicio (AUG) hasta un codón de terminación (UAA, UAG, UGA).
- El cuadro de lectura abierto, u ORF, del mRNA es la serie de codones, cada uno de los cuales especi ca un cierto aminoácido, que determina la secuencia de aminoácidos precisa de la proteína.
- Las síntesis de proteína, al igual que la síntesis de DNA y RNA, sigue la polaridad 5′ a 3′ del mRNA, y puede dividirse en tres procesos: inicio, alargamiento y terminación. Las proteínas mutantes surgen cuando sustituciones de base única dan por resultado codones que especi can un aminoácido diferente en una posición dada, cuando un codón de paro da por resultado una proteína truncada, o cuando adiciones o deleciones de base alteran el cuadro de lectura, de modo que se leen codones diferentes.
- Diversos compuestos, entre ellos varios antibióticos, inhiben la síntesis de proteína al afectar uno o más de los pasos comprendidos en la síntesis de la misma.

REFERENCIAS

Beckham CJ, Parker R: P bodies, stress granules, and viral life cycles. Cell Host Microbe 2008;3:206.

Crick F et al: The genetic code. Nature 1961;192:1227.

Kapp LD, Lorsch JR: The molecular mechanics of eukaryotic translation. Ann Rev Biochem 2004;73:657.

Kozak M: Structural features in eukaryotic mRNAs that modulate the initiation of translation. J Biol Chem 1991;266:1986.

Parker R, Sheth U: P bodies and the control of mRNA translation and degradation. Mol Cell 2007;25:635.

Sonenberg N, Hinnebusch AG: New modes of translational control in development, behavior, and disease. Mol Cell 2007;28:721.

Steitz TA, Moore PB: RNA, the first macromolecular catalyst: the ribosome is a ribozyme. Trends Biochem Sci 2003;28:411.

Weatherall DJ: Phenotype-genotype relationships in mogenic disease: Lessons from the thalassaemias. Nature Reviews Genetics 2001;2:245.

C A P Í T U L O

38

Regulación de la expresión génica

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los organismos se adaptan a cambios ambientales al alterar la expresión génica. El proceso de alteración de la expresión de gen se ha estudiado con detalle, y suele comprender modulación de la transcripción génica. El control de la transcripción finalmente depende de cambios de la interacción de proteínas reguladoras de unión específicas con diversas regiones del DNA en el gen controlado; esto puede tener un efecto positivo o negativo sobre la transcripción. El control de la transcripción puede dar por resultado expresión de gen específica para tejido, y la regulación de gen está influida por hormonas, metales pesados y sustancias químicas. Además de controles en el ámbito de transcripción, la expresión de gen también puede modularse mediante amplificación de gen, reordenamiento de gen, modificaciones postranscripcionales, estabilización del RNA, control traduccional, modificación de proteína, y estabilización de proteína. Muchos de los mecanismos que controlan la expresión de gen se usan para mostrar respuesta a hormonas y fármacos terapéuticos. De este modo, un entendimiento a nivel molecular de estos procesos llevará a la creación de agentes que alteren los mecanismos fisiopatológicos o inhiban la función o suspendan el crecimiento de microorganismos patógenos.

LA EXPRESIÓN GÉNICA REGULADA SE REQUIERE PARA EL DESARROLLO, LA DIFERENCIACIÓN Y LA ADAPTACIÓN

La información genética presente en cada célula somática normal de un organismo metazoario es prácticamente idéntica. Las excepciones se encuentran en las pocas células que tienen genes amplificados o reordenados para desempeñar funciones celulares especializadas, o células que han pasado por transformación oncogénica. La expresión de la información genética debe regularse durante la ontogenia y la diferenciación del organismo y sus componentes celulares. Además, para que el organismo se adapte a su ambiente y conserve energía y nutrientes, la expresión de la información genética debe ser influida por señales extrínsecas, y sólo mostrar respuesta cuando es necesario. A medida que los organismos han evolucionado, también han aparecido mecanismos reguladores más complejos que proporcionan al organismo y sus células la capacidad de respuesta necesaria para sobrevivir en un ambiente complejo. Las células de mamífero poseen alrededor de 1 000 veces más información genética que la bacteria *Escherichia coli*. Gran parte de esta información genética adicional probablemente está involucrada en la regulación de la expresión génica durante la diferenciación de tejidos y procesos biológicos en el organismo multicelular, y en el aseguramiento de que el organismo pueda responder a desafíos ambientales complejos.

En términos simples, sólo hay dos tipos de regulación de gen: **positiva** y **negativa** (cuadro 38-1). Cuando un elemento regulador específico aumenta de manera cuantitativa la expresión de la información genética, se dice que la regulación es positiva; cuando la presencia de un elemento regulador específico disminuye la expresión de la información genética, se considera que la regulación es negativa. El elemento o la molécula que media la regulación negativa se llama regulador negativo o **represor**; y el que media regulación positiva es un regulador positivo o **activador**. Sin embargo, un **doble negativo** tiene el efecto de actuar como un positivo. Así, un efector que inhibe la función de un regulador negativo parecerá desencadenar una regulación positiva. Muchos sistemas regulados que parecen ser inducidos, en realidad son **desreprimidos** en el ámbito molecular. (Estos términos se explican en el capítulo 9.)

LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS MUESTRAN TRES TIPOS DE RESPUESTAS TEMPORALES A UNA SEÑAL REGULADORA

La figura 38-1 describe la extensión o cantidad de expresión de gen en tres tipos de respuesta temporal a una señal inductora. Una **respuesta tipo A** se caracteriza por expresión aumentada de gen, que depende de la presencia continua de la señal inductora. Cuando dicha señal se elimina, la expresión de gen disminuye hasta sus cifras basales, pero aumenta repetidas veces en respuesta a la reaparición de la señal específica. Este tipo de respuesta por lo general se observa en procariotas en respuesta a cambios repentinos de la concentración intracelular de un nutriente. También se ve en muchos organismos superiores después de exposición a inductores, como hormonas, nutrientes o factores de crecimiento (cap. 42).

Una **respuesta tipo B** muestra expresión aumentada de gen que es transitoria incluso en presencia continua de la señal reguladora. Después de que esta última señal ha terminado, y se ha permitido a la célula que se recupere, quizá se observe una segunda respuesta transitoria a una señal reguladora subsiguiente. Este fenómeno de respuesta-desensibilización-recuperación caracteriza a la acción de muchos agentes farmacológicos, pero también es una característica de diversos procesos naturales. Este tipo de respuesta por lo general ocurre durante el desarrollo de un organismo, cuando

CUADRO 38-1 Efectos de la regulación positiva y negativa sobre la expresión génica

	Índice de expresión de gen	
	Regulación negativa	Regulación positiva
Regulador presente	Disminuida	Aumentada
Regulador ausente	Aumentada	Disminuida

sólo se requiere la aparición transitoria de un producto de gen específico aunque la señal persista.

El modelo de **respuesta tipo C** muestra una expresión génica aumentada en respuesta a la señal reguladora que persiste por tiempo indefinido incluso después de la terminación de la señal. La señal actúa como un desencadenante en este modelo. Una vez que la expresión del gen se inicia en la célula, no puede terminarse incluso en las células hijas; por ende, es una alteración irreversible y hereditaria.

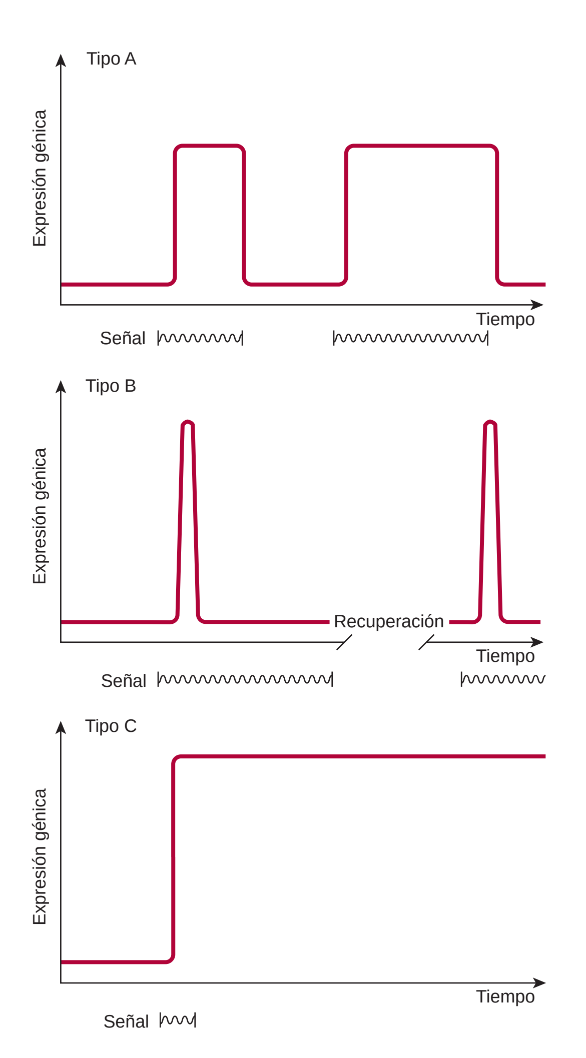


FIGURA 38-1 Representaciones esquemáticas de las respuestas de la extensión de la expresión de un gen a señales reguladoras específicas (como una hormona en función del tiempo).

Este tipo de respuesta típicamente ocurre durante el desarrollo de la función diferenciada de un tejido u órgano.

Los procariotas proporcionan modelos para el estudio de la expresión génica en células de mamífero

El análisis de la regulación de la expresión génica en células procarióticas ayudó a establecer el principio de que la información fluye desde el gen hacia un RNA mensajero, y hacia una molécula de proteína específica. Estos estudios fueron auxiliados por los análisis genéticos avanzados que fueron efectuados en organismos procarióticos y en organismos eucarióticos inferiores. Durante los últimos años, los principios establecidos en estos estudios tempranos, junto con diversas técnicas de biología molecular, han llevado a notorio progreso en el análisis de la regulación de gen en organismos eucarióticos superiores, incluso mamíferos. En este capítulo, la exposición inicial se centrará en sistemas procarióticos. No se describirán aquí los impresionantes estudios genéticos, pero se si se ofrecen comentarios sobre las características fisiológicas de la expresión de gen. Sin embargo, casi todas las conclusiones acerca de estas características fisiológicas se han derivado de estudios genéticos, y confirmado mediante experimentos de genética molecular y bioquímicos.

Algunas características de la expresión génica procariótico son singulares

Antes de que puedan explicarse las características fisiológicas de la expresión génica, es necesario definir algunos términos genéticos y reguladores especializados para sistemas procarióticos. En procariotas, los genes que participan en una vía metabólica a menudo están presentes en una disposición lineal llamada un **operón**, p. ej., el operón *lac*. Un operón puede estar regulado por un promotor o región reguladora única. El **cistrón** es la unidad de menor tamaño de expresión genética. Algunas enzimas y otras moléculas de proteína están compuestas de dos o más subunidades no idénticas (cap. 9). De esta manera, el concepto de “un gen, una enzima” no es necesariamente válido. El cistrón es la unidad genética que codifica para la estructura de la subunidad de una molécula de proteína, y actúa como la unidad más pequeña de la expresión genética. De este modo, la idea de “un gen, una enzima” podría considerarse con mayor exactitud como un concepto de **un cistrón**, **una subunidad**. Un mRNA único que codifica para más de una proteína traducida por separado se denomina un **mRNA policistrónico**. Por ejemplo, el mRNA operón *lac* policistrónico se traduce hacia tres proteínas separadas (véase más adelante). Los operones y los mRNA policistrónicos son comunes en bacterias, no así en eucariotas.

Un **gen inducible** es aquel cuya expresión aumenta en respuesta a un **inductor** o **activador**, una señal reguladora positiva específica. En general, los genes inducibles tienen índices de transcripción basales relativamente bajos. En contraste, los genes que tienen índices de transcripción basales altos a menudo quedan sujetos a regulación descendente por represores.

La expresión de algunos genes es **constitutiva**, esto es, que significa que se expresan a un índice razonablemente constante, y no se sabe que estén sujetos a regulación. A menudo reciben el nombre de

genes "de mantenimiento" o **"de administración de la casa"** ("*housekeeping*"). Como resultado de mutación, algunos productos de gen inducibles se expresan de manera constitutiva. Una mutación que da por resultado una expresión constitutiva de lo que anteriormente era un gen regulado se denomina una **mutación constitutiva**.

El análisis del metabolismo de la lactosa en *E. coli* llevó a la hipótesis del operón

En 1961, Jacob y Monod describieron su **modelo de operón** en un artículo clásico. Su hipótesis se basó en gran parte en observaciones sobre la regulación del metabolismo de la lactosa en la bacteria intestinal *E. coli*. Los mecanismos moleculares de los cuales depende la regulación de los genes comprendidos en el metabolismo de la lactosa ahora figuran entre los mejor entendidos en cualquier organismo. La β-galactosidasa hidroliza a la β-galactósido lactosa hacia lactosa y glucosa. El gen estructural que codifica para β-galactosidasa *(lacZ)* está agrupado con los genes que se encargan de la permeación de la lactosa hacia la célula *(lacY)* y para tiogalactósido transacetilasa *(lacA)*. Los genes estructurales para estas tres enzimas, junto con el promotor *lac* y el operador *lac* (una región reguladora), están físicamente asociados para constituir el **operón *lac*** (fig. 38-2). Este ordenamiento genético de los genes estructurales y sus genes reguladores permite la **expresión coordinada** de las tres enzimas que se relacionan con el metabolismo de la lactosa. Cada uno de estos genes enlazados se transcribe hacia una molécula de mRNA policistrónico largo que contiene múltiples codones de inicio (AUG) y de terminación (UAA) de la traducción independientes para cada uno de estos tres cistrones. Así, cada proteína se traduce por separado, y no se procesan a partir de una proteína precursora grande única.

Ahora es convencional considerar que un gen incluye secuencias reguladoras, así como la región que codifica para el transcrito primario. Aunque hay muchas excepciones históricas, el nombre de un gen por lo general se escribe en letras cursivas minúsculas, y la proteína codificada, cuando se abrevia, se escribe con letra tipo romano con la primera letra en mayúsculas. Por ejemplo, el gen *lacI* codifica para la proteína represora LacI. Cuando *E. coli* es presentada con lactosa o con algunos análogos de lactosa específicos en condiciones no represoras apropiadas (p. ej., concentraciones altas de lactosa, medio sin glucosa o con muy poca glucosa; véase más adelante), la expresión de las actividades de la β-galactosidasa, galactósido permeasa, y tiogalactósido transacetilasa aumenta 100 a 1 000 veces; se trata de una respuesta tipo A (fig. 38-1). La cinética de la inducción puede ser bastante rápida; los mRNA específicos para *lac* están por completo inducidos en el transcurso de 5 a 6 min después de la adición de lactosa a un cultivo; la concentración de proteína β-galactosidasa es máxima en el transcurso de 10 min. En condiciones por completo inducidas, puede haber hasta 5 000 moléculas de β-galactosidasa por cada célula, una cantidad unas 1 000 veces mayor que la concentración basal, no inducida. En el momento de la eliminación de la señal, esto es, el inductor, la síntesis de estas tres enzimas declina.

Cuando *E. coli* queda expuesta tanto a lactosa como a glucosa como fuentes de carbono, los organismos metabolizan primero la glucosa y después dejan de crecer temporalmente hasta que los genes del operón *lac* quedan inducidos para proporcionar la capacidad de metabolizar lactosa como una fuente de energía utilizable.

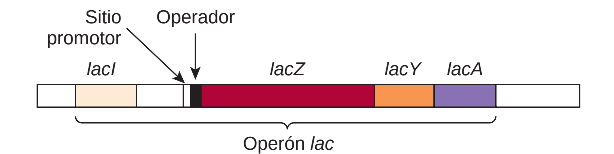


FIGURA 38-2 Las relaciones posicionales de los genes estructural y regulador del operón *lac*. *lacZ* codifica para β-galactosidasa, *lacY* codifica para una permeasa, y *lacA* codifica para una tiogalactósido transacetilasa. *lacI* codifica para la proteína represora del operón *lac*.

Aunque la lactosa está presente desde el comienzo de la fase de crecimiento bacteriano, la célula no induce las enzimas necesarias para el catabolismo de la lactosa sino hasta que la glucosa se ha agotado. Primero se creyó que este fenómeno era atribuible a la represión del operón *lac* por algún catabolito de la glucosa; por ende, se denominó represión por catabolito. Ahora se sabe que la represión por catabolito en realidad está mediada por **una proteína activadora de gen que codifica para catabolito (CAP)** de manera conjunta con **cAMP** (fig. 17-5). Esta proteína también se denomina la proteína reguladora de cAMP (CRP). La expresión de muchos sistemas enzimáticos inducibles u operones en *E. coli* y otros procariotas es sensible a la represión por catabolito (véase más adelante).

Las características fisiológicas de la inducción del operón *lac* se entienden bien en el ámbito molecular (fig. 38-3). La expresión del gen *lacI* normal del operón *lac* es constitutiva; se expresa a un índice constante, y da por resultado la formación de las subunidades del **represor *lac***. Cuatro subunidades idénticas con masa molecular relativa (peso molecular) de 38 000 se montan para formar una molécula represora Lac tetramérica. La molécula de proteína represora LacI, el producto de *LacI*, tiene afinidad alta (K_d de alrededor de 10^{-13} mol/L) para el **locus operador**, una región de DNA bicatenario de 27 pares de bases de largo con una simetría rotacional de dos pliegues y un palíndromo invertido (indicado por flechas alrededor del eje punteado) en una región que tiene 21 pares de bases de largo, como se muestra a continuación:

```
                 →            :
5′ – AATTGTGAGC G GATAACAATT
3′ – TTA ACACTCG C CTATTGTTAA
                              :        ←
```

En cualquier momento, sólo 2 de las 4 subunidades del represor parecen unirse al operador, y dentro de la región de 21 pares de bases casi cada base de cada par de bases participa en el reconocimiento de LacI y la unión al mismo. Casi toda la unión ocurre en el **surco mayor** sin interrumpir la naturaleza de bases apareadas doble hélice, del DNA operador. El **locus operador** está entre el **sitio promotor**, en el cual la RNA polimerasa dependiente de DNA se fija para comenzar la transcripción, y el sitio de inicio de la transcripción del **gen *lacZ***, el gen estructural que codifica para la β-galactosidasa (fig. 38-2). Cuando está fija al locus operador, la molécula represora LacI evita la transcripción de los genes estructurales distales, *lacZ*, *lacY* y *lacA* al interferir con la unión de RNA polimerasa al promotor; la RNA polimerasa y el represor LacI no pueden unirse con eficacia al operón *lac* al mismo tiempo. De este modo, la molécula represora LacI es un **regulador negativo**;

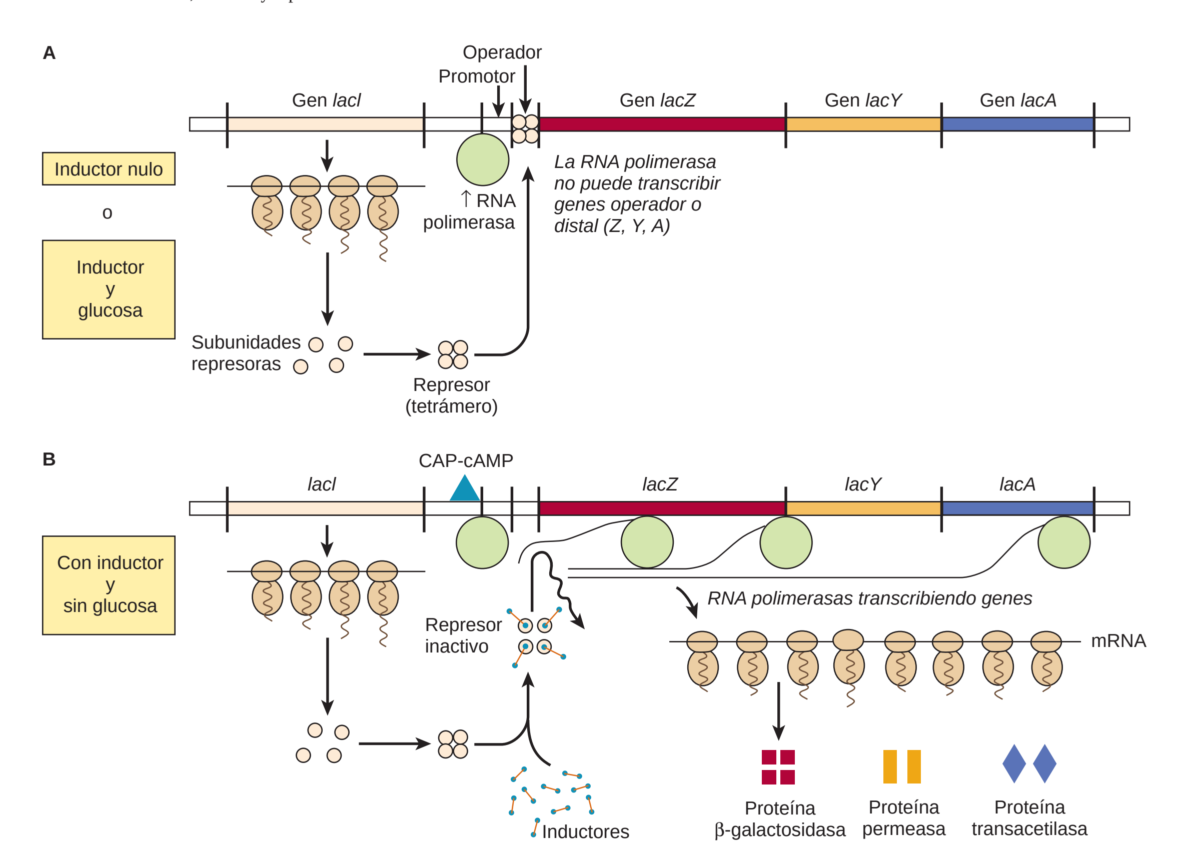


FIGURA 38-3 El mecanismo de represión y desrepresión del operón *lac*. Cuando no hay inductor, o un inductor está presente con glucosa **(A)**, los productos de gen *lacI* sintetizados de manera constitutiva forman una molécula tetrámero represora que se une al locus operador para evitar el inicio de la transcripción al bloquear la unión eficiente de RNA polimerasa en el locus promotor, lo que impide la transcripción subsiguiente de los genes estructurales *lacZ, lacY* y *lacA* hacia un mRNA policistrónico. Cuando el inductor está presente **(B)**, el inductor altera desde el punto de vista conformacional a las moléculas represoras tetraméricas, y no pueden unirse con eficiencia al locus operador (afinidad de unión reducida > 1 000 veces). En presencia de cAMP y su proteína de unión (CAP), la RNA polimerasa transcribirá con eficiencia los genes estructurales *lacZ, lacY* y *lacA,* y la molécula de mRNA policistrónico formada puede traducirse en las moléculas proteínicas correspondientes β-galactosidasa, permeasa y transacetilasa, lo que permite el catabolismo de la lactosa.

en su presencia (y en ausencia del inductor; véase más adelante), la expresión de los genes *lacZ*, *lacY* y *lacA* es muy, muy baja. Normalmente hay 20 a 40 moléculas tetraméricas represoras en la célula, una concentración de tetrámero suficiente para que en cualquier momento dado hacer que haya > 95% de ocupación del elemento operador *lac* en una bacteria, lo que asegura transcripción de gen operón *lac* basal baja (pero no de cero) en ausencia de señales inductoras.

Un análogo de la lactosa que tiene la capacidad de inducir el operón *lac*, si bien no sirve por sí mismo como un sustrato para la β-galactosidasa, es un ejemplo de un **inductor gratuito**. Un ejemplo es el isopropiltiogalactósido (IPTG). La adición de lactosa o de un inductor gratuito como IPTG a bacterias que están creciendo en una fuente de carbono poco utilizada (como succinato) da por resultado la inducción expedita de las enzimas del operón *lac*. Pequeñas cantidades del inductor gratuito o de lactosa tienen la capacidad de entrar en la célula incluso en ausencia de permeasa. Las moléculas represoras LacI —tanto las que están fijas a los *loci* operadores como las que están libres en el citosol— tienen afinidad alta por el inductor. La unión de este último a molécula represora induce un cambio de conformación en la estructura del represor, y hace que se disocie del DNA operador porque su afinidad por el operador ahora es 10^3 veces más baja (K_d de alrededor de 10^{-9} mol/L) que la de LacI en ausencia de IPTG. La RNA polimerasa dependiente de DNA ahora puede unirse a la cadena codificadora en el sitio promotor, y la transcripción empezará, aunque este proceso es relativamente ineficiente (véase más adelante). De tal manera, **un inductor "desreprime" el operón *lac***, y permite la transcripción de los genes estructurales que codifican para β-galactosidasa, galactósido permeasa y tiogalactósido transacetilasa. La traducción del mRNA policistrónico puede ocurrir incluso antes de que se complete la transcripción. La desrepresión del operón *lac* permite que la célula sintetice las enzimas necesarias para catabolizar lactosa como una fuente de energía. Con base en las características fisiológicas descritas, la expresión, inducida por IPTG, de plásmidos que fueron objeto de transfección, y que portan el operador-promotor *lac* ligado a construcciones apropiadas obtenidas mediante procesos de bioingeniería, suele usarse para expresar proteínas recombinantes de mamífero en *E. coli*.

Para que la RNA polimerasa forme un PIC (de *promoter initiation complex*) en el sitio promotor con mayor eficiencia, también debe estar presente la **proteína activadora de gen que codifica para catabolito (CAP)** a la cual el cAMP está unido. Por medio de un mecanismo independiente, la bacteria acumula cAMP sólo cuando está privada de una fuente de carbono. En presencia de glucosa —o de glicerol en concentraciones suficientes para crecer— las bacterias carecerán de suficiente cAMP para unirse a CAP porque la glucosa inhibe a la adenilil ciclasa, la enzima que convierte ATP en cAMP (cap. 41). De esta manera, en presencia de glucosa o glicerol, no hay CAP saturada con cAMP, de modo que la RNA polimerasa dependiente de DNA no puede iniciar la transcripción del operón *lac* al índice máximo. Sin embargo, en presencia del complejo de CAP-cAMP, que se une al DNA justo corriente arriba del sitio promotor, la transcripción ocurre a niveles máximos (fig. 38-3). Los estudios indican que una región de CAP entra en contacto con la subunidad α de la RNA polimerasa y facilita la unión de esta enzima al promotor. Así, el regulador CAP-cAMP está actuando como un **regulador positivo** porque se requiere su presencia para la expresión óptima génica. Por ende, el operón *lac* está controlado por dos factores *trans* de unión a DNA modulados por ligando, distintos; uno que actúa de manera positiva (complejo de cAMP-CRP) para facilitar la unión productiva de RNA polimerasa al promotor, y uno que actúa de manera negativa (represor LacI) que antagoniza la unión del promotor RNA polimerasa. La actividad máxima del operón *lac* ocurre cuando las concentraciones de glucosa son bajas (cAMP alto con activación de CAP) y hay lactosa (se evita que LacI se una al operador).

Cuando el gen *lacI* se ha mutado de modo que su producto, LacI, es incapaz de unirse al DNA operador, el organismo mostrará **expresión constitutiva** del operón *lac*. De una manera contraria, un organismo con una mutación del gen *lacI* que produce una proteína LacI que evita la unión de un inductor al represor, permanecerá reprimido incluso en presencia de la molécula inductora, porque el inductor no puede unirse al represor en el locus operador para desreprimir al operón. De modo similar, las bacterias que albergan mutaciones en su locus operador *lac* de modo que la secuencia operadora no se unirá a una molécula represora normal, expresan de manera constitutiva los genes que codifican para el operón *lac*. En células eucarióticas se han observado mecanismos de regulación positiva y negativa comparables a los aquí descritos para el sistema *lac* (véase más adelante).

El cambio genético del bacteriófago lambda (λ) proporciona un paradigma para las interacciones entre proteína y DNA en células eucarióticas

Al igual que algunos virus eucarióticos (p. ej., virus del herpes simple, VIH), algunos virus bacterianos pueden residir en un estado latente dentro de los cromosomas del huésped, o replicarse dentro del huésped bacteriano y finalmente llevar a lisis y muerte del mismo. Algunas *E. coli* albergan un virus "templado" de ese tipo, el bacteriófago lambda (λ). Cuando este último infecta a un organismo de esa especie, inyecta hacia la célula su genoma de DNA lineal, bicatenario, de 45 000 bp (fig. 38-4). Según el estado nutricional de la célula, el DNA del bacteriófago lambda se **integrará** en el genoma del huésped **(vía lisogénica)** y permanecerá latente hasta que se active (véase más adelante), o empezará a **replicarse** hasta que ha hecho alrededor de 100 copias de virus completo, empacado en proteína, momento en el cual causa lisis de su huésped **(vía lítica)**. Las partículas de virus recién generadas a continuación pueden infectar a otros huéspedes susceptibles. Las condiciones de crecimiento inadecuadas favorecen la lisogenia, mientras que las condiciones de crecimiento buenas promueven la vía lítica de crecimiento del bacteriófago lambda.

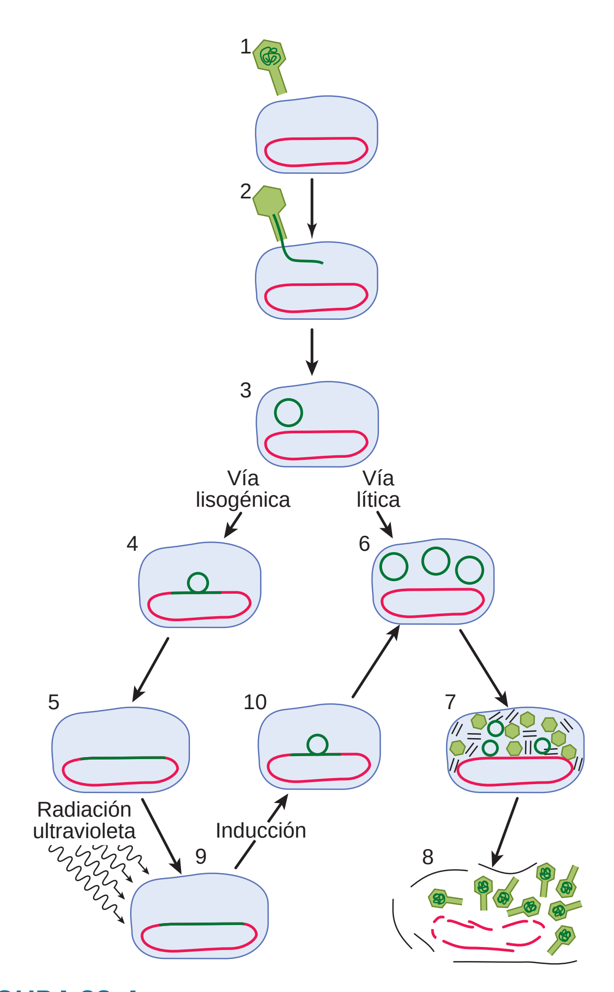


FIGURA 38-4 La infección de la bacteria *E. coli* por el fago lambda empieza cuando una partícula de virus se fija por sí misma a receptores específicos sobre la célula bacteriana **(1)** e inyecta su DNA **(línea de color verde oscuro)** hacia la célula **(2, 3).** La infección puede adoptar una u otra de dos vías dependiendo de cuál de los dos grupos de genes virales está activado. En la vía lisogénica, el DNA viral queda integrado en el cromosoma bacteriano **(rojo) (4, 5)**, donde se replica de manera pasiva a medida que el DNA y la célula bacteriana se dividen. Este virus integrado latente desde el punto de vista genómico se llama profago, y la célula que lo alberga se llama lisógeno. En el modo de infección lítico alternativo, el DNA viral se replica por sí mismo **(6)** y dirige las síntesis de proteínas virales **(7)**. Se forman alrededor de 100 partículas de virus nuevas. Los virus que están proliferando inducen lisis de la célula **(8)**. Un profago puede ser "inducido" por un agente que daña el DNA, como la radiación ultravioleta **(9)**. El agente inductor arroja un cambio, de modo que se activa un grupo diferente de genes. El DNA viral forma asas que lo expulsan del cromosoma **(10)** y se replica; el virus procede a lo largo de la vía lítica. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

Cuando se integra en el genoma del huésped en su estado latente, el bacteriófago lambda permanecerá en ese estado en tanto no se active por exposición de su huésped bacteriano a agentes que dañan el DNA. En respuesta a ese estímulo nocivo, el bacteriófago latente queda "inducido" y empieza a transcribir y después a traducir los genes de su propio genoma que son necesarios para su escisión desde el cromosoma huésped, su replicación de DNA, y la síntesis de su cubierta proteínica y sus enzimas líticas. Este evento actúa como una respuesta desencadenante o tipo C (fig. 38-1); esto es, una vez que el bacteriófago lambda latente se ha comprometido a sí mismo a inducción, no hay regreso hasta que la célula se lisa y el bacteriófago replicado se libera. Este cambio desde un estado latente o de **profago** hacia una **infección lítica** se entiende bien en los ámbitos genético y molecular, y se describirá con detalle aquí; aunque se comprende menos bien en el ámbito molecular, el HIV y el virus del herpes pueden comportarse de manera similar.

El evento de cambio genético lítico/lisogénico en el bacteriófago lambda se centra alrededor de una región de 80 bp en su genoma de DNA bicatenario, denominada el "operador derecho" (O_R) (fig. 38-5A). El **operador derecho** está flanqueado en su lado izquierdo por el gen estructural de la proteína represora lambda, ***cI,*** y en su lado derecho por el gen estructural que codifica para otra proteína reguladora llamada ***cro.*** Cuando el bacteriófago lambda se encuentra en su estado de profago —esto es, integrado en el genoma del huésped—, el gen represor *cI* es el *único* gen del mismo que se expresa. Cuando el bacteriófago lambda está pasando por crecimiento lítico, el gen represor *cI* no se expresa, pero sí se expresan el gen *cro* —así como muchos otros genes en lambda—. Es decir, **cuando el gen represor está activado**, **el gen *cro* está desactivado**, **y cuando el gen *cro* está activado**, **el gen represor *cI* está desactivado**. Como se verá, estos dos genes regulan la expresión uno del otro y, así, finalmente, la decisión entre crecimiento lítico y lisogénico del bacteriófago lambda. **Esta decisión entre transcripción de gen represor y transcripción de gen *cro* es un ejemplo paradigmático de un interruptor molecular transcripcional**.

El operador derecho lambda de 80 bp, O_R, puede subdividirse en tres elementos de DNA *cis*-activos de 17 bp, espaciados de manera uniforme, separados, que representan los sitios de unión de una u otra de dos proteínas reguladoras de bacteriófago lambda. Es importante que las secuencias de nucleótido de estos tres sitios dispuestos en tándem son similares, mas no idénticas (fig. 38-5B). Los tres elementos *cis* relacionados, llamados operadores O_R1, O_R2 y O_R3, pueden ser unidos por proteínas cI o Cro. Sin embargo, las afinidades relativas de cI y Cro por cada uno de los sitios varían, y esta afinidad de unión diferencial es fundamental para la operación apropiada del "cambio molecular" lítico o lisogénico del fago lambda. La región de DNA entre los genes *cro* y represor también contiene dos secuencias promotoras que dirigen la unión de RNA polimerasa en una orientación especificada, donde comienza a transcribir genes adyacentes. Un promotor dirige a la RNA polimerasa para que transcriba **hacia la derecha** y, así, para que transcriba a *cro* y a otros genes distales, mientras que el otro promotor dirige la transcripción del gen **represor *cI* hacia la izquierda** (fig. 38-5B).

El producto del gen represor, la **proteína represora** *cI* de 27 kDa y 236 aminoácidos, existe como una molécula de **dos dominios** en la cual el **dominio amino terminal se une al DNA operador**, y el **dominio carboxilo terminal promueve la asociación** de una proteína represora con otra para formar un dímero. Un dímero de moléculas represoras se une a **DNA operador** de manera mucho más ávida que la forma monomérica (fig. 38-6A a 38-6C).

El producto del gen *cro*, la **proteína Cro** de 9 kDa y 66 aminoácidos, tiene un dominio único pero también se une al DNA operador de manera más estrecha que un **dímero** (fig. 38-6D). El dominio único de la proteína Cro media tanto la unión a operador como la dimerización.

En una bacteria lisogénica —esto es, una bacteria que contiene un profago lambda latente integrado—, el dímero represor de lambda

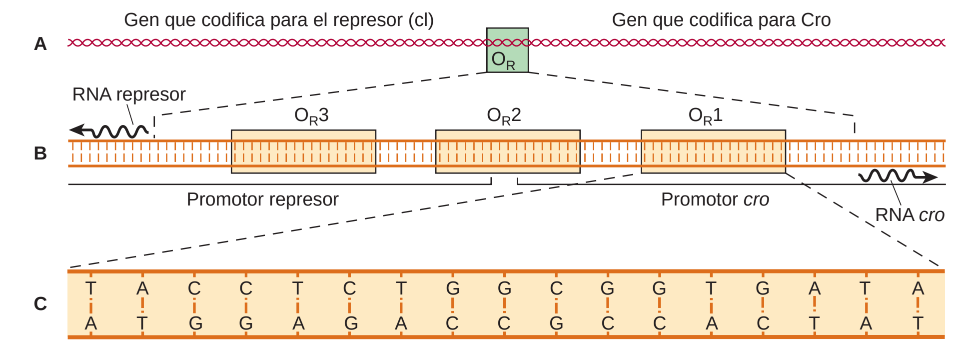


FIGURA 38-5 El operador derecho (O_R) se muestra con detalle creciente en esta serie de dibujos. El operador es una región del DNA viral de alrededor de 80 pares de base de largo **(A)**. A su izquierda yace el gen que codifica para represor de lambda (cl), a su derecha está el gen *(cro)* que codifica para la proteína reguladora Cro. Cuando la región operadora se amplía **(B)**, se observa que incluye tres subregiones: O_R1, O_R2 y O_R3, cada una de 17 pares de bases de largo. Son sitios de reconocimiento a los cuales puede unirse tanto el represor como Cro. Los sitios de reconocimiento superponen dos promotores: secuencias de bases a las cuales la RNA polimerasa se une para transcribir estos genes hacia mRNA (líneas onduladas), que se traducen hacia proteína. El sitio O_R1 está ampliado **(C)** para mostrar su secuencia de base. Note que en la región O_R del cromosoma del bacteriófago lambda, ambas cadenas de DNA actúan como una plantilla para la transcripción. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

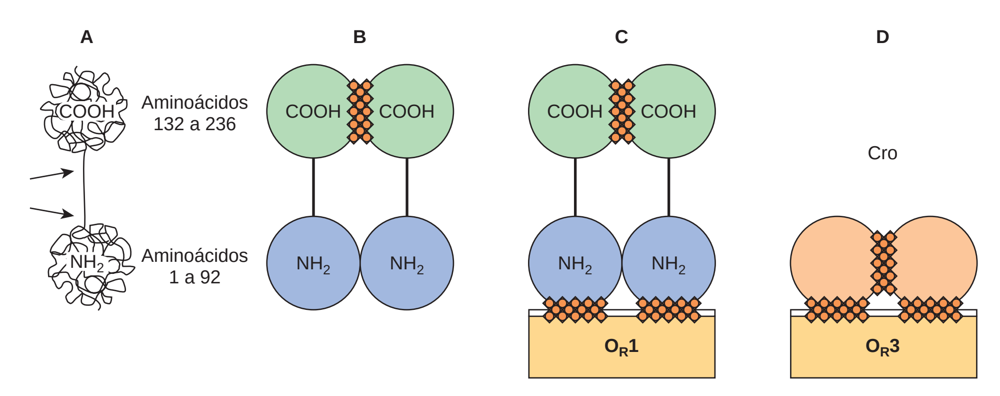


FIGURA 38-6 Estructuras moleculares esquemáticas de cI (represor lambda, mostrado en **A, B** y **C**) y Cro **(D).** La proteína represora lambda es una cadena polipeptídica de 236 aminoácidos de largo. La cadena se pliega por sí misma hacia una forma en pesa con dos subestructuras: un dominio amino terminal (NH_2) y un dominio carboxilo terminal (COOH). Los dos dominios están enlazados mediante una región de la cadena que está menos estructurada y es susceptible a división por proteasas (indicado por las dos flechas en **A**). Moléculas represoras únicas (monómeros) tienden a asociarse de manera reversible para formar dímeros **(B)**. Un dímero se sostiene junto principalmente por contacto entre los dominios carboxilo terminal (tramado). Los dímeros represores se unen a (y pueden disociarse de) los sitios de reconocimiento en la región del operador; despliegan la mayor afinidad por el sitio O_R1 **(C)**. Es el dominio amino terminal de la molécula represora lo que hace contacto con el DNA (tramado). Cro **(D)** tiene un dominio único con sitios que promueven la dimerización y otros sitios que promueven la unión de dímeros a operador, de preferencia a O_R3. (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

se une **de preferencia a O_R1**, pero al hacerlo, mediante una interacción cooperativa, aumenta la unión (por un factor de 10) de otro dímero represor a O_R2 (fig. 38-7). La afinidad del represor por O_R3 es la menor de las tres subregiones operadoras. La unión del represor a O_R1 tiene dos efectos importantes. La ocupación de O_R1 por represor **bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la derecha**, y de esa manera evita la expresión de *cro*. En segundo lugar, como se mencionó, el dímero represor unido a O_R1 aumenta la unión del dímero represor a O_R2. La unión del represor a O_R2 tiene el importante efecto adicional de **aumentar la unión de la RNA polimerasa al promotor hacia la izquierda** que superpone O_R3 y, así, aumenta la transcripción y la expresión subsiguiente del gen represor. Este aumento de la transcripción está mediado por interacciones directas entre una proteína y otra, entre RNA polimerasa unida a promotor y represor unido a O_R2, de una manera muy similar a la antes descrita para la proteína CAP y la RNA polimerasa en el operón *lac*. De este modo, el represor lambda es tanto un **regulador negativo**, al evitar la transcripción de *cro*, como un **regulador positivo**, al aumentar la transcripción de su propio gen, *cI*. Este efecto doble del represor es la causa del estado estable del bacteriófago lambda latente; el represor no sólo evita la expresión de los genes necesarios para lisis, sino que también promueve la expresión de sí mismo para estabilizar este estado de diferenciación. Si la concentración intracelular de proteína represora se hace demasiado alta, este represor excesivo se unirá a O_R3, y al hacerlo disminuye la transcripción del gen represor desde el promotor hacia la izquierda hasta que la concentración de represor decrece y el represor se disocia por sí mismo de O_R3. Despierta interés que en eucariotas se han observado ejemplos similares de proteínas represoras que también tienen la capacidad de activar la transcripción.

Con ese estado lisogénico, mediado por cI, represivo, estable, podría preguntarse de qué modo alguna vez se podría entrar al sitio lítico; sin embargo, este proceso ocurre con bastante eficiencia. Cuando una señal de daño del DNA, como luz ultravioleta, golpea la bacteria huésped lisogénica, se generan fragmentos de DNA monocatenario que activan una **co-proteasa** específica codificada por un gen bacteriano y denominada ***recA*** (fig. 38-7). La proteasa recA activada hidroliza la porción de la proteína represora que conecta los dominios amino terminal y carboxilo terminal de esa molécula (fig. 38-6A). Esa división de los dominios represores hace que los **dímeros represores se disocien** lo que, a su vez, causa **disociación de las moléculas represoras desde O_R2**, y finalmente desde O_R1. Los efectos de la eliminación de receptor desde O_R1 y O_R2 son predecibles. La RNA polimerasa inmediatamente tiene acceso al promotor hacia la derecha, y comienza a transcribir el **gen *cro***, y se pierde el efecto aumentador del represor en O_R2 en la transcripción hacia la izquierda (fig. 38-7).

La proteína Cro recién sintetizada resultante también se une a la región del operador como un dímero, pero este orden de preferencia es opuesto al del represor (fig. 38-7). Es decir, **Cro se une de manera más estrecha a O_R3**, pero no hay efecto cooperador de O_R3 sobre la unión de Cro a O_R2. A concentraciones cada vez más altas de Cro, la proteína se unirá a O_R2 y finalmente a O_R1.

La ocupación de O_R3 por Cro desactiva de inmediato la transcripción desde el promotor *cI* hacia la izquierda, y de esa manera **evita cualquier expresión adicional del gen represor**. De esta manera, el interruptor molecular se "acciona" por completo en la dirección lítica. El gen *cro* ahora se expresa, y el gen represor se desactiva por completo. Este evento es irreversible, y la expresión de otros genes del bacteriófago lambda empieza como parte del ciclo lítico. Cuando la concentración de represor Cro se hace bastante alta, finalmente ocupará O_R1 y al hacerlo reduce la expresión de su propio gen, proceso que es necesario para que se realicen las etapas finales del ciclo lítico.

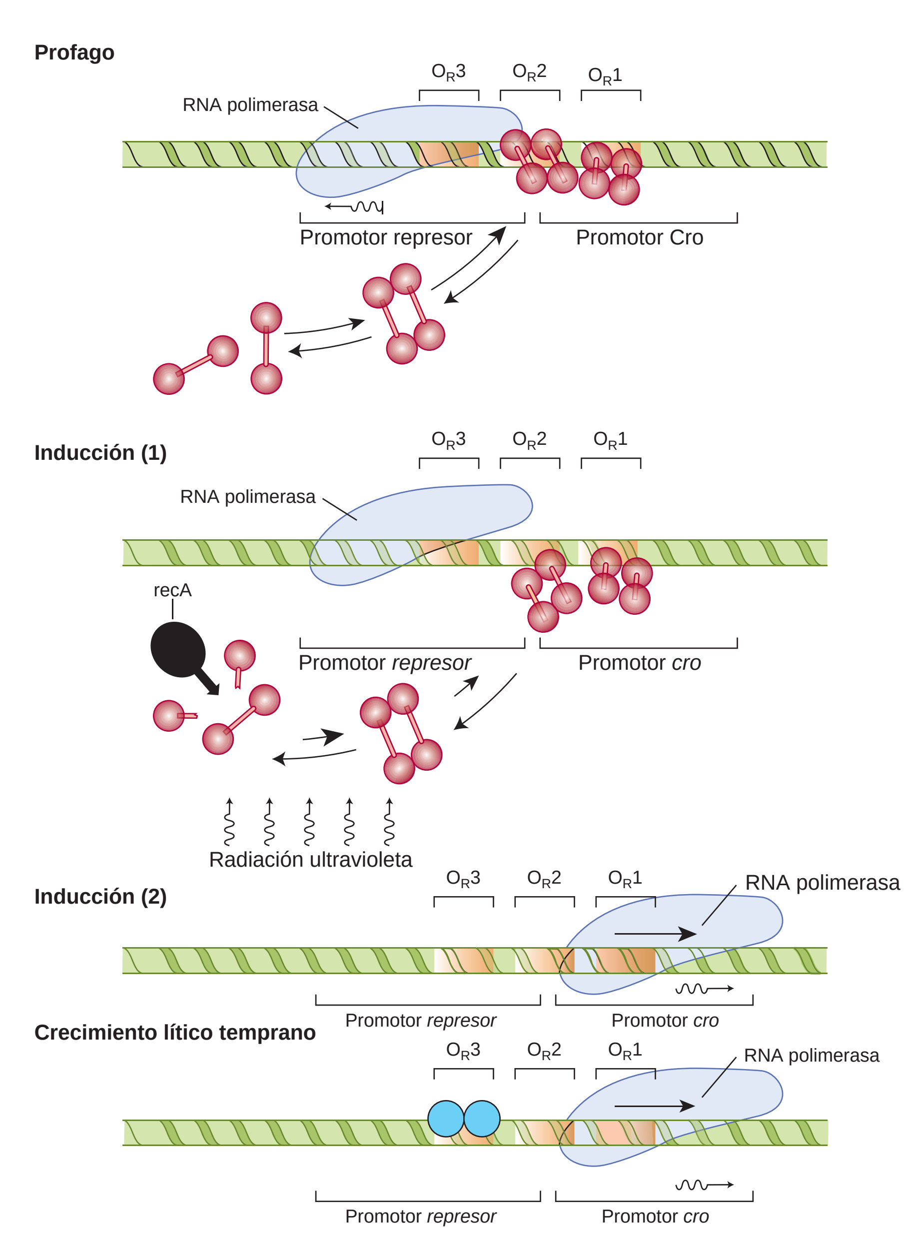


FIGURA 38-7 La configuración del cambio se muestra en las cuatro etapas del ciclo de vida del bacteriófago lambda. La vía lisogénica (en la cual el virus permanece latente como un profago) se selecciona cuando un dímero represor se une a O_R1, lo que hace que sea probable que O_R2 será llenado de inmediato por otro dímero. En el profago **(arriba),** los dímeros represores unidos en O_R1 y O_R2 evitan que la RNA polimerasa se una al promotor orientado hacia la derecha y, así, bloquea la síntesis de Cro (control negativo). Los represores también aumentan la unión de polimerasa al promotor hacia la izquierda (control positivo), con el resultado de que el gen represor se transcribe hacia RNA (línea ondulada), y se sintetiza más represor, lo que mantiene el estado lisogénico. El profago se induce **(enmedio)** cuando la radiación ultravioleta activa a la proteasa recA, que divide monómeros represores. El equilibrio de monómeros libres, dímeros libres y dímeros unidos, por ello, se desvía, y los dímeros abandonan los sitios operadores. La RNA polimerasa ya no se estimula para que se una al promotor hacia la izquierda, de modo que ya no se sintetiza el represor. A medida que procede la inducción, todos los sitios operadores quedan vacantes y, así, la polimerasa puede unirse al promotor orientado hacia la derecha, y se sintetiza Cro. Durante el crecimiento lítico temprano un dímero Cro único se une a O_R3 (círculos sombreados de azul claro), el sitio para el cual tiene la más alta afinidad. En consecuencia, la RNA polimerasa no puede unirse al promotor orientado hacia la izquierda, pero el promotor hacia la derecha permanece accesible. La polimerasa sigue unida ahí, transcribe *cro* y otros genes líticos tempranos. Surge crecimiento lítico **(abajo).** (Reproducida, con autorización, de Ptashne M, Johnson AD, Pabo CO: A genetic switch in a bacterial virus. Sci Am [Nov] 1982;247:128.)

Las estructuras tridimensionales de Cro y de la proteína represora lambda se han determinado mediante cristalografía con rayos X, y se han propuesto y probado modelos para su unión y para efectuar los eventos moleculares y genéticos antes descritos. Ambos se unen al DNA usando motivos de dominio de unión a DNA de hélice-giro-hélice (véase más adelante). Hasta la fecha, este sistema proporciona, según se dice, la mejor comprensión de los eventos moleculares involucrados en la regulación génica.

El análisis detallado del represor lambda llevó al importante concepto de que las proteínas reguladoras de la transcripción tienen varios dominios funcionales. Por ejemplo, el represor lambda se une al DNA con alta afinidad. Los monómeros represores forman dímeros, que interactúan de manera cooperativa entre sí, y el represor interactúa con la RNA polimerasa. La interfaz de proteína-DNA y las tres interfases de proteína-proteína comprenden dominios separados y distintos de la molécula represora. Como se notará (fig. 38-17), ésta es una característica compartida por casi todas las moléculas (quizá todas) que regulan la transcripción.

CARACTERÍSTICAS ESPECIALES PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN GÉNICA EUCARIÓTICA

Casi todo el DNA en células procarióticas está organizado en genes, y las plantillas siempre tienen el potencial de ser transcritas si se activan factores *trans* positivos y negativos apropiados. Existe una situación muy diferente en células de mamífero, en las cuales relativamente poco del DNA total está organizado hacia genes que codifican para mRNA y sus regiones reguladoras asociadas. La función del DNA extra se está investigando de manera activa (cap. 39; el *ENCODE Project*). Es más importante que en células eucarióticas el DNA se encuentra extensamente plegado y empacado en un complejo de proteína-DNA llamado cromatina (cap. 35). Las histonas son una parte importante de este complejo, porque ambas forman estructuras conocidas como nucleosomas (cap. 35) y son también

un factor importante en los mecanismos reguladores génicos (véase más adelante).

La remodelación de cromatina es un aspecto importante de la expresión génica eucariótica

La **estructura de la cromatina** proporciona un nivel de control adicional de la transcripción génica. Regiones grandes de cromatina son inactivas desde el punto de vista transcripcional, mientras que otras son activas o en potencia activas (cap. 35). Con pocas excepciones, cada célula contiene la misma totalidad de genes. El desarrollo de órganos, tejidos y células especializados, y su función en el organismo intacto dependen de la expresión diferencial de genes.

Parte de esta expresión diferencial se logra al tener diferentes regiones de cromatina disponibles para transcripción en células de diversos tejidos. Por ejemplo, el DNA que contiene la agrupación génica que codifica para globina β está en la **cromatina "activa"** en el reticulocito, pero en la **cromatina "inactiva"** en las células musculares. No se han elucidado todos los factores involucrados en la determinación de la cromatina activa. La presencia de nucleosomas y de complejos de histonas y DNA (cap. 35) proporciona una barrera contra la asociación fácil de factores de transcripción con regiones de DNA específicas. Por ende, la dinámica de la formación y alteración de la estructura del nucleosoma, es una parte importante de la regulación génica eucariótica.

La **modificación covalente de histona** es un determinante de importancia de la actividad génica. Las histonas están sujetas a una amplia gama de modificaciones postraduccionales específicas (cuadro 35-1). Estas modificaciones son dinámicas y reversibles. La acetilación y desacetilación de histona se entienden mejor. El descubrimiento sorprendente de que la histona acetilasa y otras actividades enzimáticas se relacionan con los correguladores involucrados en la regulación de la transcripción génica (cap. 42) ha proporcionado un nuevo concepto de regulación génica. Se sabe que la acetilación ocurre en residuos lisina en las colas amino terminal de moléculas de histona. Esta modificación reduce la carga positiva de estas colas, y disminuye la afinidad de unión de histona para el DNA con carga negativa. Esa modificación covalente de las histonas crea nuevos sitios de unión para proteínas adicionales, como complejos de remodelado de cromatina dependientes de ATP. Estos complejos pueden aumentar la accesibilidad de secuencias de DNA adyacentes al eliminar histonas nucleosómicas. Juntos entonces correguladores (modificadores de cromatina y remodeladores de cromatina), que trabajan en conjunto, pueden abrir promotores génicos y regiones reguladoras, lo que facilita la unión de otros factores *trans* y RNA polimerasa II y GTF (figs. 36-10 y 11). La desacetilación de histona catalizada por correpresores transcripcionales tendría el efecto opuesto. Diferentes proteínas con actividades de acetilasa y desacetilasa específicas se asocian con diversos componentes del aparato de transcripción. La especificidad de estos procesos está en investigación, al igual que diversos mecanismos de acción. En el capítulo 42 se ilustran algunos ejemplos específicos.

Hay evidencia de que la **metilación de residuos desoxicitidina** (en la secuencia 5′-^{m}CpG-3′) en el DNA puede efectuar cambios en la cromatina, de modo que impide su transcripción activa (cap. 35). Por ejemplo, en el hígado de ratón sólo pueden expresarse los genes ribosómicos no metilados, y hay evidencia de que muchos virus de animales no se transcriben cuando su DNA está metilado. La desmetilación aguda de residuos desoxicitidina en regiones específicas génicas inducibles que codifican para hormona esteroide se ha relacionado con un índice aumentado de transcripción génica. Sin embargo, aún es imposible generalizar que el DNA metilado es inactivo desde el punto de vista transcripcional, que toda la cromatina inactiva está metilada, o que el DNA activo no está metilado.

Por último, la unión de factores de transcripción específicos a elementos de DNA cognados puede dar por resultado alteración de la estructura nucleosómica. Muchos genes eucarióticos tienen múltiples elementos de DNA de unión a proteína. La unión seriada de factores de transcripción a estos elementos —de un modo combinacional— puede alterar de manera directa la estructura del nucleosoma, evitar que vuelva a formarse, o reclutar, por medio de interacciones entre una proteína y otra, complejos correguladores de múltiples proteínas que tienen la capacidad para modificar o remodelar de manera covalente nucleosomas. Estas reacciones dan por resultado cambios estructurales en el ámbito de cromatina, que al final aumentan la accesibilidad del DNA a otros factores y a la maquinaria de transcripción (compárese con lo que se señaló antes).

El DNA eucariótico, que se encuentra en una región "activa" de cromatina, se puede transcribir. Al igual que en células procarióticas, un **promotor** dicta dónde iniciará la transcripción la RNA polimerasa, pero el promotor en células de mamífero (cap. 36) es más complejo. Además, los factores de acción *trans* por lo general provienen de otros cromosomas (y, así, actúan en *trans*), mientras que esta consideración es discutible en el caso de las células procarióticas que contienen un solo cromosoma. Se añade más complejidad por elementos o factores que aumentan o reprimen la transcripción, definen la expresión específica para tejido, y modulan las acciones de muchas moléculas efectoras. Por último, resultados recientes sugieren que la activación y represión génica podría ocurrir cuando genes particulares se movilizan hacia dentro o fuera de diferentes compartimientos o ubicaciones subnucleares.

Ciertos elementos del DNA potencian o reprimen la transcripción génica eucariótica

Además de cambios evidentes en la cromatina que afectan la actividad transcripcional, ciertos elementos del DNA facilitan o aumentan su iniciación en el promotor y, por ende, se denominan **potenciadores**. **Los elementos potenciadores**, **que típicamente contienen múltiples sitios de unión para proteínas transactivadoras**, difieren del promotor en aspectos notables. Pueden ejercer su influencia positiva sobre la transcripción aun cuando están separados por decenas de miles de pares de bases desde un promotor; funcionan cuando están orientados en una u otra dirección, y pueden trabajar corriente arriba (5′) o abajo (3′) desde el promotor. Los potenciadores son inespecíficos, de modo que pueden estimular cualquier promotor en la vecindad y actuar sobre más de un promotor. El potenciador SV40 viral puede ejercer una influencia sobre, por ejemplo, la transcripción de la globina β al aumentar su transcripción 200 veces en células que contienen tanto el potenciador SV40 como el gen que codifica para la globina β en el mismo plásmido (véanse más adelante y la fig. 38-8); en este caso, el potenciador SV40 del gen que

codifica para globina β se construyó usando tecnología de DNA recombinante (cap. 39). El elemento potenciador no produce un producto que a su vez actúa sobre el promotor, puesto que sólo es activo cuando existe dentro de la misma molécula de DNA que (esto es, en posición *cis* a) el promotor. Las proteínas de unión potenciadoras se encargan de este efecto. Los mecanismos exactos mediante los cuales funcionan estos activadores de la transcripción están sujetos a investigación intensiva. Desde luego, se ha mostrado que los factores *trans* de unión a potenciador interactúan con muchísimas otras proteínas de transcripción. Estas interacciones comprenden coactivadores modificadores de cromatina, Mediador, así como los componentes individuales de la maquinaria de transcripción de la RNA polimerasa II basal. Finalmente, los eventos de unión a DNA de factor *trans*-potenciador dan por resultado un aumento de la unión de la maquinaria de transcripción basal al promotor. Los elementos potenciadores y las proteínas de unión relacionadas a menudo transmiten hipersensibilidad a nucleasa a las regiones donde residen (cap. 35). En el cuadro 38-2 se presenta un resumen de las propiedades de los potenciadores.

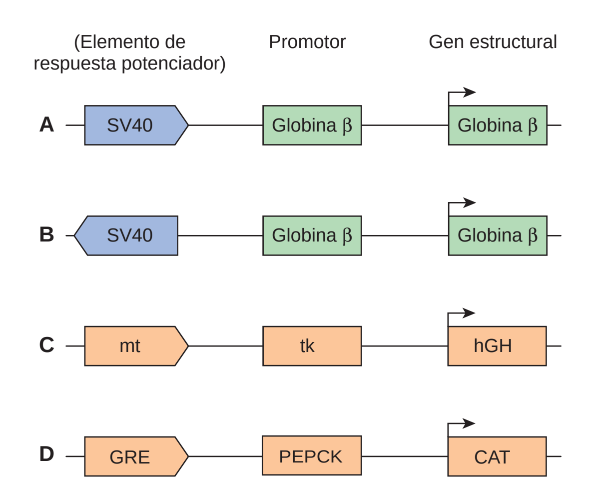


FIGURA 38-8 Ilustración esquemática de la acción de potenciadores y otros elementos reguladores de acción *cis*. Estos genes quiméricos modelo, todos construidos mediante técnicas de DNA recombinante (cap. 39) *in vitro*, constan de un gen reportero (estructural) que codifica para una proteína que se puede valorar con facilidad, y que en circunstancias normales no se produce en las células que se van a estudiar, un promotor que asegura el inicio exacto de la transcripción, y los elementos reguladores indicados. En todos los casos, la transcripción de alto nivel desde las quimeras indicadas depende de la presencia de potenciadores, que estimulan la transcripción ≥ 100 veces sobre las cifras transcripcionales basales (esto es, transcripción de los mismos genes quiméricos que contienen sólo promotores fusionados a los genes estructurales). Los ejemplos **(A)** y **(B)** ilustran el hecho de que los potenciadores (p. ej., SV40) trabajan en una u otra orientación y sobre un promotor heterólogo. El ejemplo **(C)** ilustra que el elemento regulador metaloproteína (mt) (que bajo la influencia del cadmio o cinc induce la transcripción del gen que codifica para mt endógeno y, por ende, la proteína mt de unión a metal) funcionará por medio del promotor timidina cinasa (tk) para aumentar la transcripción del gen que codifica para la hormona de crecimiento humana (hGH). Las construcciones genéticas producidas mediante procedimientos de ingeniería se introdujeron en los pronúcleos machos de embriones de ratón de célula única, y los embriones se colocaron en el útero de una madre subrogada para que se desarrollaran como animales transgénicos. Se ha generado descendencia en estas condiciones, y en algunos especímenes la adición de iones de cinc a su agua de bebida produce un incremento de la hormona de crecimiento hepática. En este caso, estos animales transgénicos han respondido a las cifras altas de hormona de crecimiento al hacerse dos veces más grandes que sus compañeros de camada normales. El ejemplo **(D)** ilustra que un elemento de respuesta a glucocorticoides (GRE) funcionará por medio de promotores homólogos (gen que codifica para PEPCK) o promotores heterólogos (que no se muestran), esto es promotor tk, promotor SV40, promotor globina β, etcétera).

Uno de los sistemas potenciadores de mamífero que se entienden mejor es el del gen que codifica para el interferón β. Este gen se induce en el momento de infección viral de células de mamífero. Un objetivo de la célula, una vez infectada por un virus, es intentar montar una respuesta antiviral, si no para salvarse, para ayudar a salvar a todo el organismo contra infección por virus. La producción de interferón es un mecanismo mediante el cual se logra esto. Esta familia de proteínas se secreta por células infectadas por virus. El interferón secretado interactúa con las células vecinas para causar una inhibición de la replicación viral por diversos mecanismos, lo que limita la extensión de la infección por virus. El elemento potenciador que controla la inducción del gen que codifica para interferón β, que está localizado entre los nucleótidos -110 y -45, se encuentra bien caracterizado; está compuesto de cuatro elementos *cis* agrupados, separados, cada uno de los cuales está unido por factores *trans* únicos. Un elemento *cis* es unido por el factor de acción *trans* NF-κB, uno por un miembro de la familia de factores *trans* IRF (factor regulador de interferón), y un tercero por el factor cremallera de leucina heterodimérico ATF-2/c-Jun (véase más adelante). El cuarto factor es el factor de transcripción estructural abundante y omnipresente conocido como HMG I(Y). En el momento de unión a sus sitios de unión degenerados, ricos en A+T, HMG I(Y) induce una flexión importante en el DNA. Hay cuatro de esos sitios de unión HMG I(Y) entremezclados en todo el potenciador. Estos sitios desempeñan una función crucial en la formación de una estructura tridimensional (3-D) particular, junto con los tres factores *trans* mencionados, al inducir una serie de flexiones del DNA con espaciado crucial. En consecuencia, HMG I(Y) induce la formación cooperativa de una estructura 3-D única, estereoespecífica, dentro de la cual los cuatro factores están activos cuando la célula detecta señales de infección viral: la estructura formada por el montaje cooperativo de estos cuatro factores se denomina el potenciosoma de interferón β (fig. 38-9), así llamado debido a su obvia similitud estructural con el nucleosoma, también una estructura de proteína-DNA tridimensional singular que envuelve el DNA alrededor de un montaje de proteínas (figs. 35-1 y 35-2). El potenciosoma, una vez

CUADRO 38-2 Resumen de las propiedades de los potenciadores

• Funcionan cuando están localizados a grandes distancias desde el promotor
• Funcionan cuando están corriente arriba o corriente abajo desde el promotor
• Funcionan cuando están orientados en cualquier dirección
• Pueden funcionar con promotores homólogos o heterólogos
• Trabajan al unirse a una o más proteínas
• Trabajan al facilitar la unión del complejo de transcripción basal al promotor

formado, induce un incremento grande de la transcripción génica que codifica para interferón β en el momento de la infección por virus. No es sólo la ocupación por proteína de los sitios de elemento *cis* yuxtapuestos de manera lineal lo que induce la transcripción génica que codifica para el interferón β; más bien, es la formación del potenciosoma propiamente dicho que proporciona superficies apropiadas para el reclutamiento de coactivadores lo que da por resultado la formación aumentada del PIC sobre el promotor *cis*-enlazado y, así, activación de la transcripción.

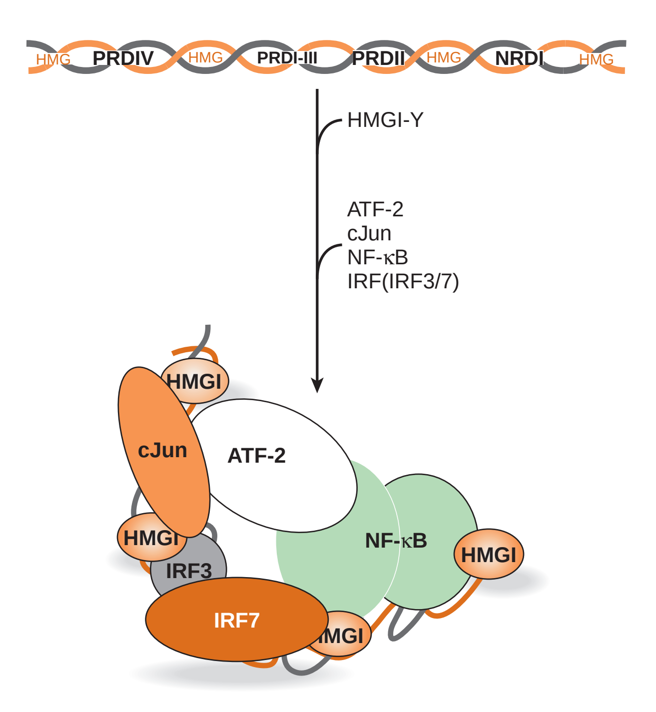


FIGURA 38-9 Formación de una estructura putativa del potenciosoma formado en el potenciador del gen que codifica para interferón β humano. En la parte superior se representa de forma esquemática la distribución de los múltiples elementos *cis* (HMG, PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) que componen el potenciador del gen que codifica para interferón β. El potenciador intacto media la inducción transcripcional del gen que codifica para interferón β (más de 100 veces) en el momento de infección viral de células humanas. Los elementos *cis* de este potenciador modular representan los sitios de unión para los factores *trans* HMG I(Y), cJun-ATF-2, IRF3-IRF7 y NF-κB, respectivamente. Los factores interactúan con estos elementos de DNA de una manera obligatoria, ordenada, y muy cooperativa, según lo indica la flecha. La unión inicial de cuatro proteínas HMG I(Y) induce flexiones agudas del DNA en el potenciador, lo que hace que toda la región de 70 a 80 bp adopte una curvatura pronunciada. Esta curvatura es esencial para la unión muy cooperativa subsiguiente de los otros factores *trans,* porque permite que los factores de unión a DNA hagan importantes interacciones directas entre una proteína y otra que contribuyen a la formación y estabilidad del potenciosoma y generan una superficie tridimensional singular que sirve para reclutar correguladores modificadores de cromatina que portan actividades enzimáticas (p. ej., Swi/Snf: ATPasa, remodelador de cromatina y P/CAF: histona acetiltransferasa), así como la maquinaria de transcripción general (RNA polimerasa II y GTF). Aunque cuatro de los cinco elementos *cis* (PRDIV, PRDI-III, PRDII, NRDI) de manera independiente puede estimular modestamente (~10 veces) la transcripción de un gen reportero en células que fueron objeto de transfección (figs. 38-10 y 38-12), se requieren los cinco elementos *cis,* en orden apropiado, para formar un potenciador capaz de estimular de manera apropiada la transcripción de gen que codifica para mRNA (esto es, ≥ 100 veces) en respuesta a infección viral de una célula de ser humano. Esta distinción indica el estricto requerimiento de estructura de potenciosoma apropiada para la activación *trans* eficiente. Se propone que en muchos otros genes de mamífero se forman potenciosomas similares, que comprenden factores *cis* y *trans* separados y correguladores.

También se han identificado los elementos de acción *cis* que disminuyen o **reprimen** la expresión génica específica. Dado que se ha estudiado un menor número de estos elementos, es imposible formular generalizaciones acerca de su mecanismo de acción, aunque, de nuevo, al igual que para la activación génica, han quedado comprendidas modificaciones covalentes en el ámbito de cromatina, de histonas y otras proteínas, por correpresores de múltiples subunidades reclutados por (represor).

La expresión específica para tejido puede depender de la acción de potenciadores o represores

Ahora se reconoce que muchos genes albergan elementos potenciadores o activadores en diversas ubicaciones respecto a sus regiones de codificación. Además de tener la capacidad de potenciar la transcripción génica, algunos de estos elementos potenciadores poseen con claridad la capacidad para hacerlo de una manera específica para tejido. Así, el elemento potenciador relacionado con los genes que codifican para inmunoglobulina entre las regiones J y C, aumenta la expresión de esos genes de preferencia en las células linfoides. De modo similar, mediante fusión de potenciadores específicos para tejido conocidos o sospechados a genes reporteros (también llamados genes indicadores) (véase más adelante) y al introducir estas construcciones quiméricas de potenciador-reportero con técnicas microquirúrgicas en embriones unicelulares, es posible crear un animal transgénico (cap. 39), y probar de manera rigurosa si un potenciador de prueba dado en realidad impulsa la expresión de una manera específica para célula o tejido. Este método de **animal transgénico** ha resultado útil para estudiar la expresión génica específica para tejido.

Los genes reporteros se usan para definir elementos potenciadores y otros elementos reguladores

Al ligar regiones de DNA que se sospecha que albergan secuencias reguladoras a diversos genes reporteros (el **método del gen reportero** o **quimérico**) (figs. 38-8, 38-10 y 38-11), es posible determinar cuáles regiones en la vecindad génica estructural tienen una influencia sobre su expresión. Fragmentos de DNA que se cree que albergan elementos reguladores se ligan a un gen reportero idóneo y se introducen a una célula huésped (fig. 38-10). La expresión basal del gen reportero estará aumentada si el DNA contiene un potenciador. La adición de una hormona o un metal pesado al medio de cultivo aumentará la expresión del gen reportero si el DNA contiene un elemento de respuesta a hormona o metal (fig. 38-11). La ubicación del elemento puede determinarse con precisión al usar pedazos progresivamente más cortos de DNA, deleciones o mutaciones puntuales (fig. 38-11).

Esta estrategia, en la que típicamente **se usan células en cultivo que fueron objeto de transfección** (esto es, células inducidas para

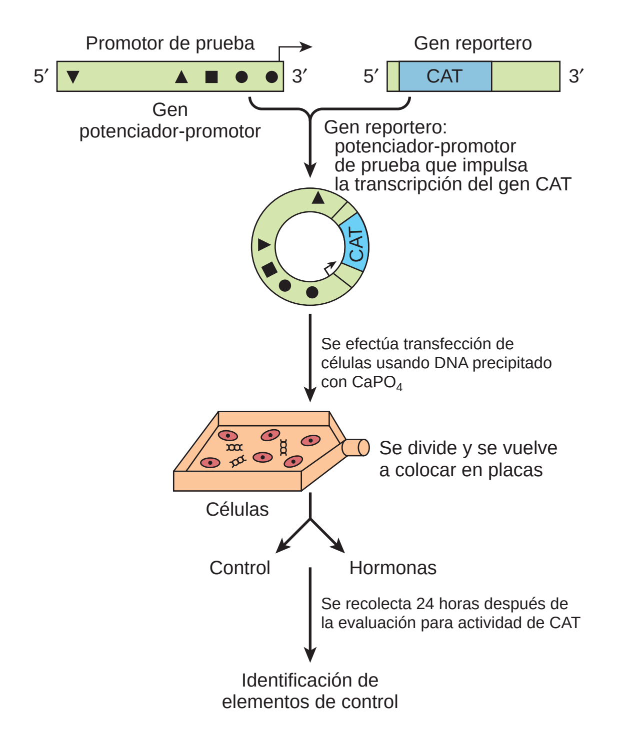


FIGURA 38-10 El uso de genes reporteros para definir elementos reguladores del DNA. Un fragmento de DNA del gen en cuestión —en este ejemplo, aproximadamente 2 kb de DNA 5'-flanqueador y promotor correspondiente— está ligado hacia un vector plásmido que contiene un gen reportero idóneo —en este caso, la enzima bacteriana cloranfenicol transferasa (CAT)—. La enzima luciferasa (que se abrevia LUC) es otro gen reportero popular. Ni LUC ni CAT está presente en células de mamífero; por ende, la detección de estas actividades en un extracto celular significa que la célula fue objeto de transfección exitosa por el plásmido. Un aumento de la actividad de CAT sobre el nivel basal, p. ej., después de la adición de una o más hormonas, significa que la región de DNA insertada en el plásmido de gen reportero contiene elementos de respuesta a hormona (HRE) funcionales. Fragmentos progresivamente más cortos de DNA, regiones con deleciones internas, o regiones con mutaciones puntuales, se pueden construir e insertar para identificar con precisión el elemento de respuesta (en la fig. 38-11 se presenta el mapeo de deleción de los HRE importantes).

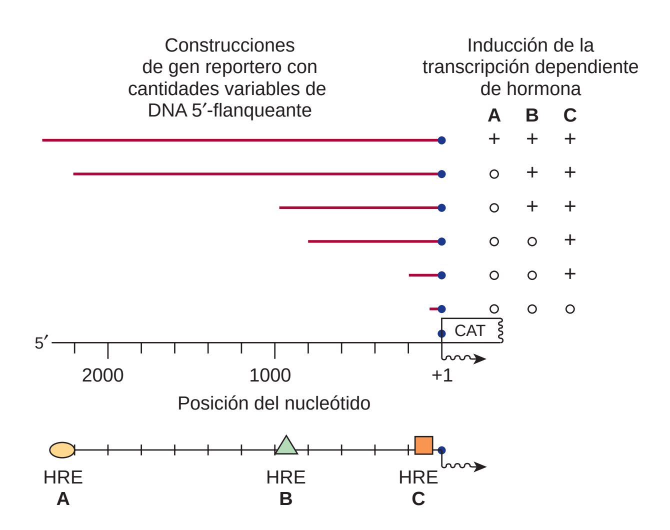


FIGURA 38-11 Mapeo de elementos de respuesta a hormona (HRE) **(A)**, **(B)**, y **(C)** usando el método de transfección de gen reportero. Se puede efectuar transfección de una familia de genes reporteros, construida como se describe en la figura 38-10, de manera individual hacia una célula receptora. Al analizar cuándo se pierden ciertas respuestas hormonales en comparación con el punto terminal de deleción 5', pueden localizarse elementos con capacidad de respuesta a hormona específicos.

captar DNA exógenos), ha llevado a la identificación de cientos de potenciadores, represores, elementos específicos para tejido, y elementos de respuesta a hormona, metal pesado y fármaco. La actividad de un gen en cualquier momento refleja la interacción de estos muchos elementos de DNA de acción *cis* con sus respectivos factores de acción *trans*. La respuesta transcripcional general está determinada por el balance de emisión de señales positivas y negativas hacia la maquinaria de transcripción. Ahora, el desafío es averiguar cómo ocurre esto en el ámbito molecular.

Las combinaciones de elementos de DNA y proteínas relacionadas proporcionan diversidad en las respuestas

Los genes procarióticos a menudo están regulados de una manera de activación-desactivación en respuesta a indicios ambientales simples. Algunos genes eucarióticos están regulados de la manera de activación-desactivación simple, pero en casi todos los genes, especialmente en mamíferos, el proceso es mucho más complicado. Señales que representan diversos estímulos ambientales complejos pueden converger en un gen único. La respuesta del gen a estas señales puede tener varias características fisiológicas. En primer lugar, la respuesta puede extenderse en un rango considerable. Esto se logra al tener respuestas positivas aditivas y sinérgicas contraequilibradas por efectos negativos o represores. En algunos casos, la respuesta positiva o la negativa puede ser dominante. También se requiere un mecanismo por medio del cual un efector, como una hormona, puede activar a algunos genes en una célula mientras que reprime a otros, y deja a otros más no afectados. Cuando todos estos procesos se acoplan con factores de elemento específicos para tejido, se proporciona considerable flexibilidad. Es obvio que estas variables fisiológicas requieren un ordenamiento mucho más complejo que un interruptor de activación-desactivación. La gama de elementos de DNA en un promotor especifica —con factores relacionados— de qué modo un gen dado mostrará respuesta, y durante cuánto tiempo se mantiene una respuesta particular. La figura 38-12 ilustra algunos ejemplos simples.

Los dominios de transcripción pueden definirse por regiones de control de locus y por aisladores

El gran número de genes en las células eucarióticas, y las disposiciones complejas de factores reguladores de la transcripción, plantean un problema organizacional. ¿Por qué algunos genes están disponibles para transcripción en una célula dada, mientras que otros no lo están? Si los potenciadores pueden regular varios genes desde distancias de decenas de kilobases, y no son dependientes de la posición ni de la orientación, ¿cómo se evita que desencadenen transcripción de todos los genes enlazados a *cis* en la vecindad? Se llega a parte de la solución a estos problemas al tener la cromatina dispuesta en unidades funcionales que restringen modelos de expresión

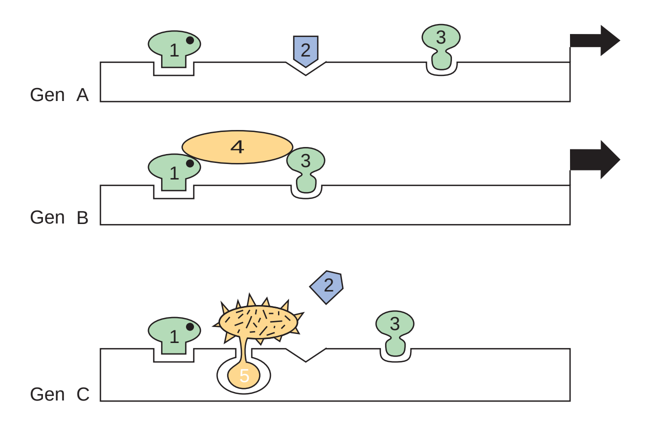


FIGURA 38-12 Combinaciones de elementos de DNA y proteína proporcionan diversidad en la respuesta de un gen. El gen A se activa (la anchura de la flecha indica la extensión) por la combinación de activadores 1, 2 y 3 (probablemente con coactivadores, fig. 36-10). La combinación de 1, 3 y 4 activa el gen B, en este caso con mayor eficacia; nótese que en este ejemplo 4 no entra en contacto directo con el DNA. Los activadores podrían formar un puente lineal que enlaza la maquinaria basal al promotor, o esto podría lograrse al formar asas fuera del DNA. En uno u otro caso, el propósito es dirigir la maquinaria de transcripción basal hacia el promotor. La combinación de 1, 5 y 3 desactiva al gen C; en este caso, se muestra que el factor 5 impide la unión esencial del factor 2 al DNA, como ocurre en el ejemplo A. Si el activador 1 ayuda a la unión del represor 5, y si la unión del activador 1 requiere un ligando (punto negro), puede observarse de qué modo el ligando podría activar un gen en una célula (gen A) y reprimir otro (gen C).

génica. Esto puede lograrse al hacer que la cromatina forme una estructura con la matriz nuclear u otra entidad física, o compartimiento dentro del núcleo. De manera alternativa, algunas regiones están controladas por elementos de DNA complejos llamados **regiones de control de locus (LCR)**. Una LCR —con proteínas unidas relacionadas— controla la expresión de una agrupación génica. La LCR mejor definida regula la expresión de la familia génica que codifica para globina en una región grande de DNA. Los **aisladores** proporcionan otro mecanismo. Estos elementos de DNA, también en asociación con una o más proteínas, evitan que un potenciador actúe sobre un promotor en el otro lado de un aislador en otro dominio de transcripción. De este modo, los aisladores sirven como **elementos de frontera** transcripcionales.

VARIOS MOTIVOS MEDIAN LA UNIÓN DE PROTEÍNAS REGULADORAS AL DNA

La especificidad comprendida en el control de la transcripción requiere que las proteínas reguladoras se unan con afinidad y especificidad altas a la región correcta de DNA. Tres motivos únicos —la **hélice-giro-hélice**, el **dedo de cinc** y la **cremallera de leucina—** explican muchas de estas interacciones específicas entre proteína y DNA. En el cuadro 38-3 se presentan ejemplos de proteínas que contienen estos motivos.

La comparación de las actividades de unión de las proteínas que contienen estos motivos lleva a varias generalizaciones importantes.

1. La unión debe ser de alta afinidad al sitio específico, y de baja afinidad a otro DNA.

CUADRO 38-3 Ejemplos de proteínas reguladoras de la transcripción que contienen los diversos motivos de unión

Motivo de unión	Organismo	Proteína reguladora
Hélice-giro-hélice	*E. coli*	Represor lac CAP
	Fago	λcI, cro, y triptófano y 434 represores
	Mamíferos	Proteínas de la homeosecuencia (homeocaja) Pit-1, Oct1, Oct2
Dedo de cinc	*E. coli*	Proteína del gen 32
	Levadura	Gal 4
	Drosophila	Serendipia, Jorobado
	Xenopus	TFIIIA
	Mamíferos	Familia de receptor de esteroide, Sp1
Cremallera de leucina	Levadura	GCN4
	Mamíferos	C/EBP, fos, Jun, Fra-1, proteína de unión CRE, c-*myc*, n-*myc*, l-*myc*

2. Regiones pequeñas de la proteína hacen contacto directo con el DNA; el resto de la proteína, además de proporcionar los dominios de activación *trans*, puede estar comprendida en la dimerización de monómeros de la proteína de unión, proporcionar una superficie de contacto para la formación de heterodímeros, proveer uno o más sitios de unión a ligando, o proporcionar superficies para interacción con coactivadores o correpresores.
3. Las interacciones entre proteína y DNA se mantienen mediante enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, y fuerzas de van der Waals.
4. Los motivos que se encuentran en estas proteínas son singulares; su presencia en una proteína de función desconocida sugiere que la proteína puede unirse al DNA.
5. Las proteínas con los motivos de hélice-giro-hélice o de cremallera de leucina forman dímeros, y sus sitios de unión a DNA respectivos son palíndromos simétricos. En proteínas con el motivo de dedo de cinc, el sitio de unión se repite dos a nueve veces. Estas características permiten que haya interacciones cooperativas entre sitios de unión, y aumentan el grado de unión y la afinidad de la misma.

El motivo hélice-giro-hélice

El primer motivo descrito es la **hélice-giro-hélice**. El análisis de la estructura tridimensional del regulador de la transcripción Cro lambda ha revelado que cada monómero consta de tres hojas β antiparalelas y tres hélices α (fig. 38-13). El dímero se forma mediante asociación de las hojas β_3 antiparalelas. Las hélices α_3 forman la superficie de reconocimiento de DNA, y el resto de la molécula parece estar involucrada en la estabilización de estas estructuras. El diámetro promedio de una hélice α es de 1.2 nm, que es la anchura aproximada del surco mayor en la forma B del DNA.

El dominio de reconocimiento de DNA de cada monómero Cro interactúa con 5 bp, y los sitios de unión a dímero abarcan 3.4 nm, lo que permite que se adapten en medios giros sucesivos del surco mayor en la misma superficie (fig. 38-13). Análisis con rayos X del represor cI λ, CAP (la proteína receptora de cAMP de *E. coli*),

represor de triptófano, y represor del fago 434, también despliegan esta estructura de hélice-giro-hélice dimérica que también está presente en proteínas eucarióticas de unión a DNA (cuadro 38-3).

El motivo dedo de cinc

El **dedo de cinc** fue el segundo motivo de unión a DNA cuya estructura atómica se elucidó. Se supo que la actividad de la proteína TFIIIA, un regulador positivo de la transcripción del gen que codifica para RNA 5S, requería cinc. Análisis estructurales y biofísicos revelaron que cada molécula de TFIIIA contiene nueve iones de cinc en un complejo de coordinación repetitivo formado por residuos cisteína-cisteína estrechamente espaciados, seguidos por 12 a 13 aminoácidos más tarde por un par de histidina-histidina (fig. 38-14). En algunas circunstancias —entre las que destaca la familia de receptor de hormona nuclear esteroide-tiroidea— el doblete His-His es remplazado por un segundo par Cis-Cis. La proteína que contiene dedos de cinc parece yacer sobre una cara de la hélice de DNA, con dedos sucesivos ubicados de manera alternativa en un giro del surco mayor. Como sucede con el dominio de reconocimiento en la proteína de hélice-giro-hélice, cada dedo de cinc TFIIIA entra en contacto con alrededor de 5 bp de DNA. La importancia de este motivo en la acción de hormonas esteroides es subrayada por un "experimento de la Naturaleza". Una mutación de aminoácido único en uno u otro de los dos dedos de cinc de la proteína receptora de 1,25 $(OH)_2$-D_3 da por resultado resistencia a la acción de esta hormona, y el síndrome clínico de raquitismo.

El motivo cremallera de leucina

El análisis cuidadoso de una secuencia de 30 aminoácidos en la región carboxilo terminal de la proteína de unión potenciadora C/EBP reveló una estructura nueva, **el motivo cremallera de leucina**. Esta región de la proteína forma una hélice α en la cual hay una repetición periódica de residuos leucina en cada séptima posición (fig. 38-15). Esto ocurre para ocho giros de hélice y cuatro repeticiones de leucina. Se han encontrado estructuras similares en varias otras proteínas relacionadas con la regulación de la transcripción en células de mamífero y de levadura. Esta estructura permite que dos monómeros idénticos o no idénticos (p. ej., Jun-Jun o Fos-Jun) se "unan con cremallera" en una espiral enrollada y que formen un complejo dimérico estrecho (fig. 38-15). Esta interacción entre una proteína y otra puede servir para aumentar la asociación de los dominios de unión a DNA separados, con su blanco (fig. 38-15).

LOS DOMINIOS DE UNIÓN Y TRANSACTIVACIÓN DE DNA DE CASI TODAS LAS PROTEÍNAS REGULADORAS ESTÁN SEPARADOS Y SON NO INTERACTIVOS

La unión de DNA podría dar por resultado un cambio conformacional general que permite que la proteína unida active la transcripción, o estas dos funciones podrían ser desempeñadas por do-

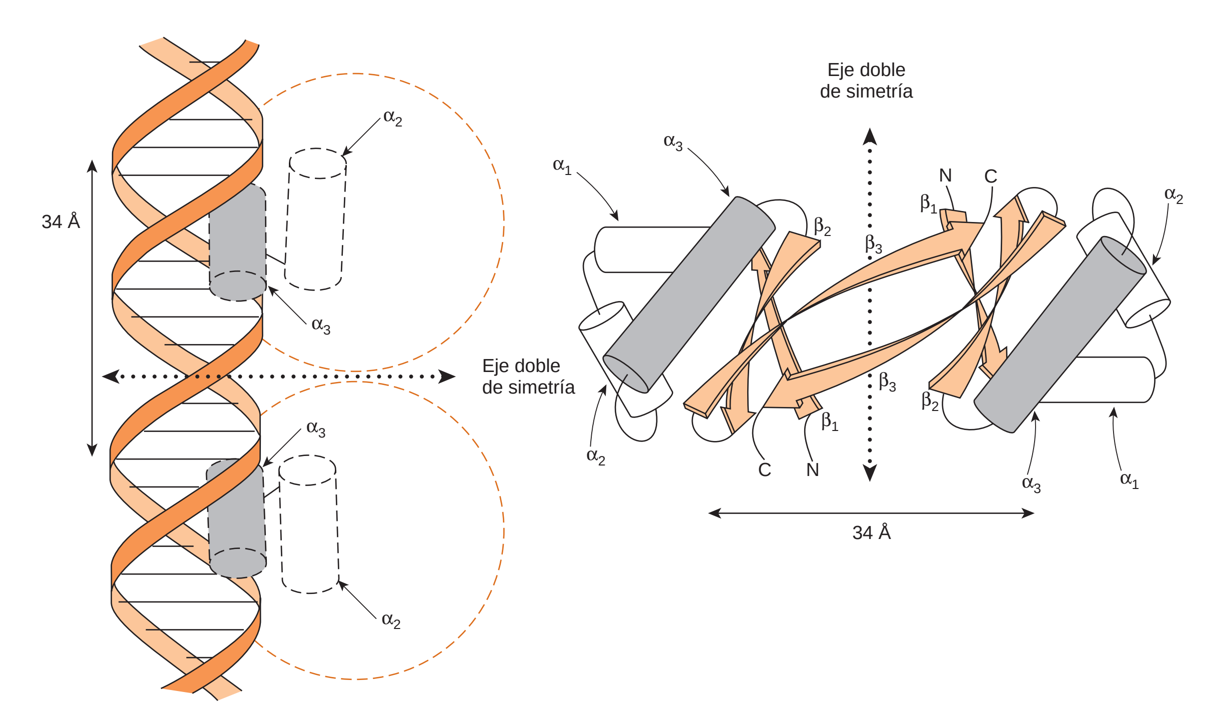


FIGURA 38-13 Representación esquemática de la estructura tridimensional de la proteína Cro y su unión al DNA mediante su motivo de hélice-giro-hélice **(izquierda)**. El monómero Cro consta de tres hojas β ($β_1$ a $β_3$) y tres hélices α ($α_1$ a $α_3$), antiparalelas. El motivo hélice-giro-hélice se forma porque las hélices $α_3$ y $α_2$ se mantienen a alrededor de 90 grados entre sí mediante un giro de cuatro aminoácidos. La hélice $α_3$ de Cro es la superficie de reconocimiento de DNA **(sombreada).** Dos monómeros se relacionan por medio de las hojas $β_3$ antiparalelas para formar un dímero que tiene un eje de simetría doble **(derecha).** Un dímero Cro se une al DNA por medio de sus hélices $α_3$, cada una de las cuales entra en contacto con alrededor de 5 bp en la misma superficie del surco mayor. La distancia entre puntos comparables en las dos hélices α del DNA es de 34 Å, que es la distancia requerida para un giro completo de la doble hélice. (Cortesía de B Mathews.)

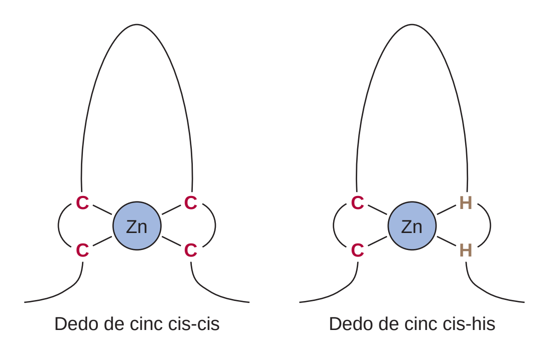


FIGURA 38-14 Los dedos de cinc son una serie de dominios repetidos (dos a nueve) en los cuales cada uno está centrado en una coordinación tetraédrica con cinc. En el caso del TFIIIA, la coordinación es proporcionada por un par de residuos cisteína (C) separados por 12 a 13 aminoácidos de un par de residuos histidina (H). En otras proteínas dedo de cinc, el segundo par también consta de residuos C. Los dedos de cinc se unen en el surco mayor; dedos adyacentes hacen contacto con 5 bp a lo largo de la misma cara de la hélice.

minios independientes y separados. Experimentos de intercambio de dominio sugieren que típicamente sucede esto último.

El producto de gen *GAL1* participa en el metabolismo de la galactosa en levaduras. La transcripción de este gen está regulada de manera positiva por la proteína GAL4, que se une a una secuencia activadora corriente arriba (UAS), o potenciador, por medio de un dominio amino terminal. El dominio de unión a DNA (DBD) de 73 aminoácidos amino terminal de GAL4 se eliminó y fue remplazado por el DBD de LexA, una proteína de unión a DNA de *E. coli*. Este intercambio de dominio dio por resultado una molécula que no se unió al UAS *GAL1* y, por supuesto, no activó al gen *GAL1* (fig. 38-16). Sin embargo, si el operador *lexA* —la secuencia de DNA que normalmente es unida por el *lexA*DBD— se insertó en la región promotora del gen *GAL*, lo que remplazó el potenciador *GAL1* normal, la proteína híbrida se unió a este promotor (en el operador *lexA*) y activó la transcripción de *GAL1*. Este experimento, que se ha repetido varias veces, proporciona evidencia sólida de que la región carboxilo terminal de GAL4 causa activación transcripcional. Estos datos también demuestran que el DBD de unión a DNA y los dominios de transactivación (AD) son independientes y no interactivos. La jerarquía comprendida en el montaje de complejos activadores de la transcripción de gen incluye proteínas que se unen al DNA y lo transactivan; otras que forman complejos proteína-proteína que forman puentes con proteínas de unión a DNA para transactivar proteínas, y otras que forman complejos proteína-proteína con componentes de correguladores o el aparato de transcripción basal. De esta manera, una proteína dada puede tener varias superficies modulares o dominios que desempeñan diferentes funciones (fig. 38-17). El propósito primario de estos montajes de complejo es facilitar el montaje, o la actividad, o ambos, del aparato de transcripción basal en el promotor adyacente o en *cis* (cap. 36).

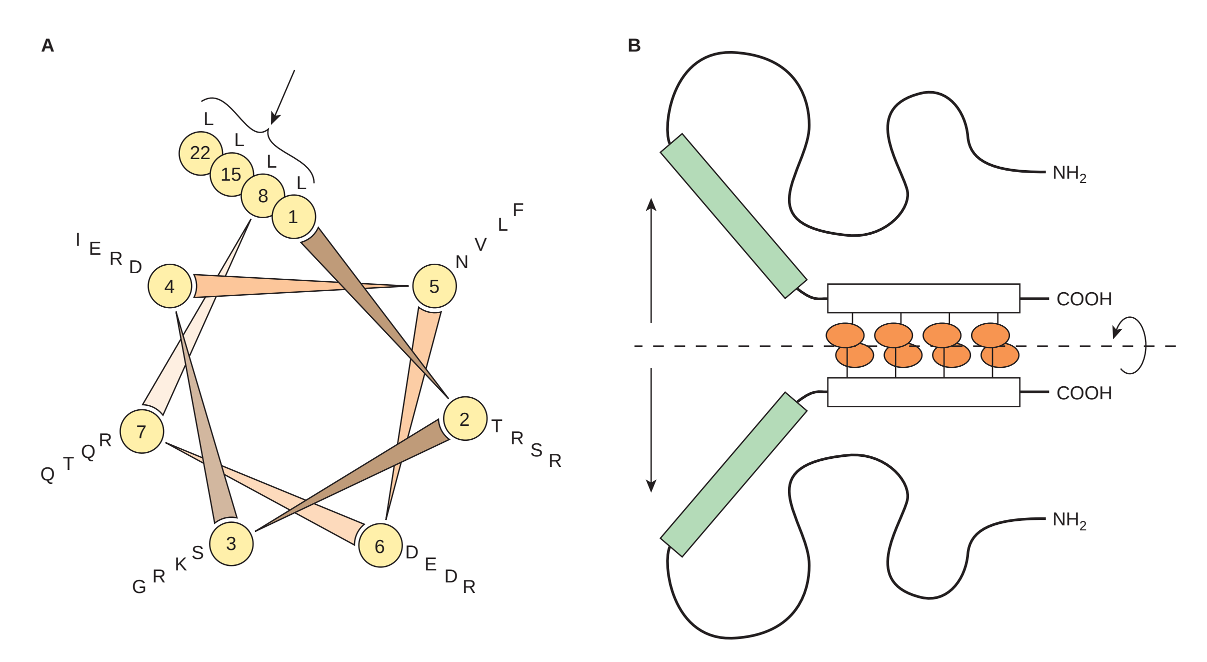


FIGURA 38-15 El motivo de cremallera de leucina. **(A)** muestra un análisis de rueda helicoidal de una porción carboxilo terminal de la proteína de unión a DNA C/EBP. La secuencia de aminoácido se despliega terminal a terminal por el eje de una hélice α esquemática. La rueda helicoidal consta de siete rayos que corresponden a los siete aminoácidos que comprenden cada dos vueltas de la hélice α. Nótese que los residuos leucina (L) ocurren en cada séptima posición (en esta C/EBP esquemática residuos aminoácido 1, 8, 15, 22; véase la flecha). Otras proteínas con "cremalleras de leucina" tienen un modelo en rueda helicoidal similar. **(B)** Es un modelo esquemático del dominio de unión a DNA de C/EBP. Dos cadenas polipeptídicas C/EBP idénticas se mantienen en formación de dímero por el dominio de cremallera de leucina de cada polipéptido (denotado por los rectángulos y por los óvalos adosados). Esta asociación se requiere para mantener los dominios de unión a DNA de cada polipéptido (los rectángulos sombreados) en la conformación apropiada para unión a DNA. (Cortesía de S McKnight.)

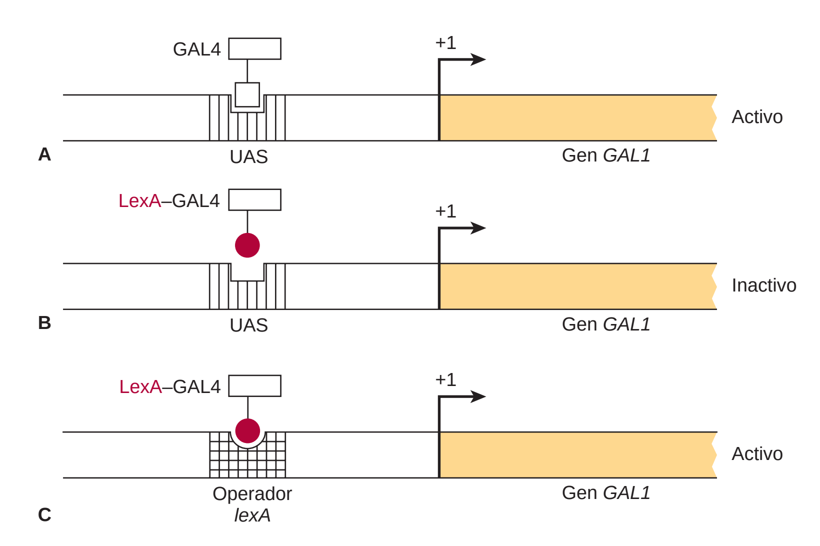


FIGURA 38-16 Experimentos de intercambio de dominio demuestran la naturaleza independiente de dominios de unión a DNA y de activación de la transcripción. El promotor del gen *GAL1* contiene una secuencia activadora corriente arriba (UAS, del inglés *upstream activating sequence*) o potenciador que se une a la proteína reguladora GAL4 **(A).** Esta interacción da por resultado una estimulación de la transcripción del gen *GAL1*. Una proteína quimérica, en la cual se elimina el dominio de unión a DNA amino terminal de GAL4, y se remplaza por la región de unión a DNA de la proteína de *E. coli* LexA, no estimula la transcripción de *GAL1* porque el dominio LexA no puede unirse a la UAS **(B).** En contraste, la proteína de fusión LexA-GAL4 aumenta la transcripción de *GAL1* cuando el operador *lexA* (su blanco natural) se inserta en la región promotora *GAL1* **(C)**, lo que remplaza la UAS *GAL1* normal.

LA REGULACIÓN GÉNICA EN PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS DIFIERE EN ASPECTOS IMPORTANTES

Además de la transcripción, las células eucarióticas emplean diversos mecanismos para regular la expresión génica (cuadro 38-4). La membrana nuclear de células eucarióticas segrega físicamente la transcripción génica desde la traducción, dado que los ribosomas sólo existen en el citoplasma. Participan muchos más pasos en la expresión de genes eucarióticos, especialmente en el procesamiento del RNA, que en la de genes procarióticos, y tales etapas proporcionan sitios adicionales para influencias reguladoras que no pueden existir en procariotas. Estos pasos de procesamiento del RNA en eucariotas (cap. 36) comprenden la capucha o casquete de los extremos 5′ de los transcritos primarios, adición de una cola de poliadenilato a los extremos 3′ de transcripciones, y escisión de regiones intrón para generar exones empalmados en la molécula de mRNA maduro. Hasta la fecha, los análisis de expresión de gen eucariótico proporcionan evidencia de que ocurre regulación en el ámbito de la **transcripción**, **el procesamiento de RNA nuclear**, **la estabilidad de mRNA**, **y la traducción**. Además, la amplificación y el reordenamiento génico influyen sobre la expresión génica.

Debido al advenimiento de la tecnología de DNA recombinante, se ha progresado mucho durante los últimos años en el entendimiento de la expresión génica eucariótica. Sin embargo, dado que la mayor parte de los organismos eucarióticos contiene mucho más información genética que los procariotas, y puesto que la manipulación de sus genes es mucho más difícil, los aspectos moleculares de la regulación de gen eucariótico se entienden menos bien que los ejemplos que se comentaron antes en este capítulo. En esta sección se describen de manera breve algunos tipos diferentes de regulación génica eucariótica.

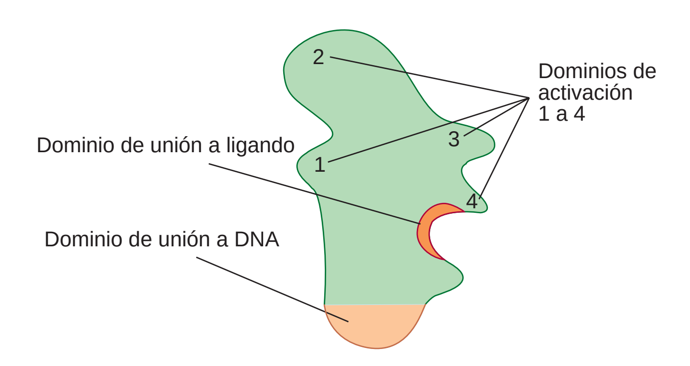


FIGURA 38-17 Las proteínas que regulan la transcripción tienen varios dominios. Este factor de transcripción hipotético tiene un dominio de unión a DNA (DBD) que es distinto de un dominio de unión a ligando (LBD) y varios dominios de activación (AD) (1 a 4). Otras proteínas pueden carecer del DBD o del LBD, y todas pueden tener números variables de dominios que entran en contacto con otras proteínas, incluso correguladores y los del complejo de transcripción basal (véanse también los caps. 41 y 42).

Los miRNA modulan la expresión génica al alterar la función del mRNA

La clase recién descubierta de RNA pequeños eucarióticos, llamados miRNA, contribuye de manera importante al control de la expresión génica (cap. 35). Estos RNA de ~22 nucleótidos regulan la traducibilidad de mRNA específicos al inhibir la traducción o inducir degradación del mRNA, aunque en algunos casos se ha mostrado que los miRNA estimulan la función del mRNA (traducción). Se cree que al menos una parte de la modulación de la actividad de mRNA impulsada por miRNA ocurre en el **cuerpo P** (fig. 37-11). La acción de miRNA puede dar por resultado cambios notorios de la producción de proteína y, por ende, de la expresión génica. Los miRNA han quedado implicados en muchas enfermedades de seres humanos, como enfermedad del corazón, cáncer, emaciación muscular, infección viral y diabetes.

CUADRO 38-4 La expresión de gen está regulada por la transcripción y de muchas otras maneras en el ámbito del RNA en células eucarióticas

• Amplificación de gen
• Reordenamiento de gen
• Procesamiento de RNA
• Empalme de mRNA alternado
• Transporte de mRNA desde el núcleo hacia el citoplasma
• Regulación de la estabilidad del mRNA

Los miRNA, al igual que los factores de transcripción de unión a DNA descritos antes con detalle, tienen actividad *trans,* y una vez sintetizados y procesados de manera apropiada, interactúan con proteínas específicas y se unen a mRNA blanco, de forma típica en regiones de mRNA 3′ no traducidas (fig. 36-17). La unión de miRNA a blancos de mRNA está dirigida por reglas de formación de pares de bases normales. En general, si la formación de par de base de **miRNA-mRNA** tiene uno o más errores de emparejamiento, la traducción del mRNA "blanco" afín se inhibe, mientras que si la formación de pares de base de **miRNA-mRNA** es perfecta en los 22 nucleótidos, el mRNA correspondiente se degrada.

Dada la enorme y siempre creciente importancia de los miRNA, muchos científicos y compañías de biotecnología estudian de manera activa la biogénesis, el transporte y la función de miRNA con la esperanza de curar enfermedades en seres humanos. El tiempo dirá la magnitud y universalidad de la regulación de gen mediada por miRNA. Es probable que en el futuro cercano los científicos develen la importancia médica de estos interesantes RNA pequeños.

Los genes eucarióticos se pueden amplificar o reordenar durante el desarrollo o en respuesta a fármacos

Durante el desarrollo temprano de metazoarios, hay un aumento repentino de la necesidad de moléculas específicas, como moléculas de RNA ribosómico y RNA mensajero para proteínas que constituyen estructuras como el cascarón de huevo. Una manera de aumentar el índice al cual pueden formarse esas moléculas es incrementar el número de genes disponibles para la transcripción de estas moléculas específicas. Entre las secuencias de DNA repetitivas dentro del genoma figuran cientos de copias de genes que codifican para RNA ribosómico. Estos genes preexisten de manera repetitiva en el DNA de los gametos y, así, se transmiten en altos números de copias de una generación a otra. En algunos organismos específicos, como la mosca de la fruta (*Drosophila*), ocurre durante la oogénesis una amplificación de algunos genes preexistentes como los que codifican para las proteínas del corion (cascarón de huevo). Después, estos genes amplificados, probablemente generados por un proceso de inicios repetidos durante la síntesis de DNA, proporcionan múltiples sitios para la transcripción génica (figs. 36-4 y 38-18).

Las secuencias codificadoras de las cuales depende la generación de moléculas de proteína específicas, a menudo son no contiguas en el genoma de mamífero (cap. 36). En el caso de genes que codifican para anticuerpo, esto es en particular verdadero. Las inmunoglobulinas están compuestas de dos polipéptidos, las llamadas cadena pesada (de alrededor de 50 kDa) y ligera (de unos 25 kDa) (cap. 50). Los mRNA que codifican para estas dos subunidades proteínicas están codificados por secuencias de gen sujetas a extensos cambios de codificación de la secuencia de DNA. Estos cambios de codificación de DNA son esenciales para generar la diversidad de reconocimiento indispensable fundamental para la función inmunitaria apropiada.

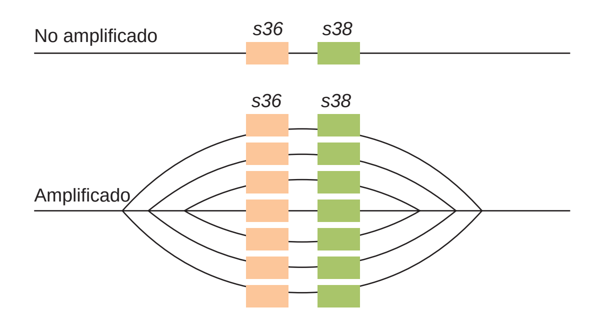


FIGURA 38-18 Representación esquemática de la amplificación de los genes que codifican para proteína del corion, *s36* y *s38*. (Reproducida, con autorización, de Chisholm R: Gene amplification during development. Trends Biochem Sci 1982;7:161. Copyright ©1982. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

Los mRNA que codifican para cadenas pesada y ligera de IgG son codificados por varios segmentos diferentes que se repiten en tándem en la línea germinal. Así, por ejemplo, la cadena ligera de IgG está compuesta de dominios o segmentos variable (V_L), de unión (J_L) y constante (C_L). Para subgrupos particulares de cadenas ligeras de IgG, hay aproximadamente 300 segmentos codificadores de gen V_L repetidos en tándem, cinco secuencias codificadoras J_L dispuestas en tándem, y alrededor de 10 segmentos codificadores de gen C_L. Todas estas regiones codificadoras múltiples, separadas, están ubicadas en la misma región del mismo cromosoma, y cada tipo de segmento codificador (V_L, J_L y C_L) se repite en tándem de manera cabeza a cola dentro de la región de repetición de segmento. Al tener múltiples segmentos V_L, J_L y C_L a partir de los cuales elegir, una célula inmunitaria tiene un repertorio mayor de secuencias con las cuales trabajar para desarrollar tanto flexibilidad como especificidad inmunitaria. Sin embargo, una unidad de transcripción de cadena ligera de IgG funcional dada —al igual que todas las otras unidades de transcripción de mamífero "normales"— sólo contiene las secuencias codificadoras para una proteína única. De este modo, antes de que pueda expresarse una cadena ligera de IgG particular, deben recombinarse secuencias codificadoras V_L, J_L y C_L *únicas* para generar una unidad de transcripción contigua, *única*, con exclusión de los múltiples segmentos no utilizados (esto es, los otros alrededor de 300 segmentos V_L, los otros cuatro segmentos J_L, y los otros nueve segmentos C_L, no usados). Esta deleción de información genética no usada se logra mediante recombinación de DNA selectiva que elimina el DNA codificador no deseado, mientras que retiene las secuencias codificadoras requeridas: una secuencia V_L, una J_L, y una C_L. (Las secuencias V_L están sujetas a mutagénesis puntual adicional para generar aún más variabilidad —de ahí el nombre—.) De esta manera, las secuencias recién recombinadas forman una unidad de transcripción única que es competente para la transcripción mediada por RNA polimerasa II hacia un mRNA monocistrónico único. Si bien los genes IgG representan uno de los casos mejor estudiados de reordenamiento de DNA dirigido que modula la expresión genética, en la literatura médica se han descrito otros casos de reordenamiento de DNA regulador génico. De hecho, como se detalla más adelante, la amplificación génica inducida por fármaco es una importante complicación de la quimioterapia de cáncer.

En años recientes ha sido posible promover la amplificación de regiones genéticas específicas en células de mamífero en cultivo. En algunos casos puede lograrse un aumento de varios miles de veces del número de copias de genes específicos en un periodo que comprende dosis cada vez mayores de fármacos selectivos. De hecho, en pacientes que reciben metotrexato para cáncer se ha demostrado que las células malignas pueden adquirir **resistencia a fármaco** al aumentar el número de genes que codifican para la dihidrofolato reductasa, el blanco del metotrexato. Eventos de amplificación y de-

leción génica como éstos, que involucran 10 a 1 000 000 de bp de DNA, ocurren de manera espontánea *in vivo* —es decir, en ausencia de agentes selectivos proporcionados de manera exógena— y estas rondas de replicación extra no programadas pueden llegar a estabilizarse en el genoma bajo presiones selectivas apropiadas.

El procesamiento de RNA alternativo es otro mecanismo de control

Además de afectar la eficiencia de la utilización de promotor, las células eucarióticas emplean procesamiento de RNA alternativo para controlar la expresión génica. Esto puede ocurrir cuando se usan promotores, sitios de empalme de intrón-exón, o sitios de poliadenilación, alternativos. En ocasiones sobreviene heterogeneidad dentro de una célula, pero con mayor frecuencia la misma transcripción primaria se procesa de manera diferente en distintos tejidos. A continuación se presentan algunos ejemplos de cada uno de estos tipos de regulación.

El uso de **sitios de inicio de la transcripción alternativos** origina un exón 5′ diferente en mRNA que codifica para amilasa y cadena ligera de miosina de ratón, glucocinasa de rata, y alcohol deshidrogenasa y actina de *Drosophila*. Los **sitios de poliadenilación alternativos** en el transcrito primario de cadena pesada de inmunoglobulina μ dan por resultado mRNA que tienen 2 700 bases (μ_m) o 2 400 bases (μ_s) de largo. Esto produce una región carboxilo terminal diferente de las proteínas codificadas, de modo que la proteína μ_m permanece fija a la membrana del linfocito B, y la inmunoglobulina μ_s se secreta. El **empalme y procesamiento alternativos** dan por resultado la formación de siete mRNA que codifican para α-tropomiosina únicos en varios tejidos diferentes. No está claro de qué modo se toman estas decisiones de procesamiento-empalme o si estos pasos se pueden regular.

La regulación de la estabilidad de RNA mensajero proporciona otro mecanismo de control

Aunque casi todos los mRNA en células de mamífero son muy estables (vida media que se mide en horas), algunos se recambian con mucha rapidez (vida media de 10 a 30 minutos). En ciertas circunstancias, la estabilidad del mRNA se encuentra sujeta a regulación, lo cual tiene inferencias importantes puesto que por lo general hay una relación directa entre la cantidad de mRNA y la traducción de ese mRNA hacia su proteína cognada. Por ende, los cambios de la estabilidad de un mRNA específico pueden tener efectos importantes sobre procesos biológicos.

Los RNA mensajeros existen en el citoplasma como partículas de ribonucleoproteína (RNP). Algunas de estas proteínas protegen al mRNA contra digestión por nucleasas, mientras que otras, en ciertas condiciones, pueden promover el ataque por nucleasa. Se cree que los mRNA se estabilizan o desestabilizan por la interacción de proteínas con estas diversas estructuras o secuencias. Ciertos efectores, como las hormonas, pueden regular la estabilidad del mRNA al aumentar o disminuir la cantidad de estas proteínas.

Parece ser que **los extremos de moléculas de mRNA participan en la estabilidad del mRNA** (fig. 38-19). La estructura del casquete 5′ en el mRNA eucariótico evita ataque por 5′ exonucleasas, y la cola poli(A) impide la acción de 3′ exonucleasas. En moléculas de mRNA que tienen esas estructuras, se cree que un corte endonucleolítico único permite que las exonucleasas ataquen y digieran toda la molécula. Se cree que otras estructuras (secuencias) en la región 5′ no traducible (UTR 5′), la región codificadora, y el UTR 3′ favorecen o impiden esta acción endonucleolítica inicial (fig. 38-19). Se citarán algunos ejemplos ilustrativos.

La deleción del UTR 5′ da por resultado una prolongación de 3 a 5 veces la vida media del mRNA c-*myc*. El acortamiento de la región del mRNA que codifica para histona da por resultado una vida media prolongada. Una forma de autorregulación de la estabilidad del mRNA involucra de manera indirecta la región codificadora. La tubulina libre se une a los primeros cuatro aminoácidos de una cadena naciente de tubulina a medida que surge desde el ribosoma. Esto parece activar a una RNasa relacionada con el ribosoma, que después digiere el mRNA que codifica para tubulina.

Las estructuras en el extremo 3′, incluso la cola poli(A), aumentan o disminuyen la estabilidad de mRNA específicos. La ausencia de una cola poli(A) se relaciona con degradación rápida de mRNA, y la eliminación de poli(A) desde algunos RNA suscita su desestabilización. Los mRNA que codifican para histona carecen de una cola poli(A) pero tienen una secuencia cerca de la terminal 3′ que puede formar una estructura en forma de tallo-asa, y esto parece proporcionar resistencia al ataque exonucleolítico. El mRNA que

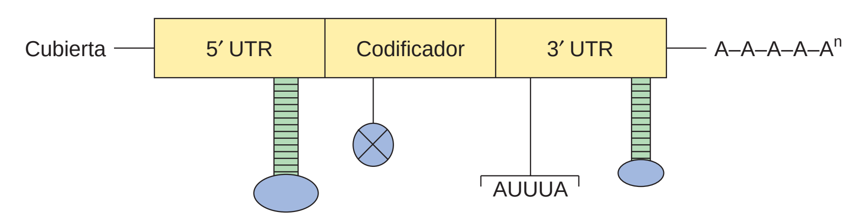


FIGURA 38-19 Estructura de un mRNA eucariótico típico que muestra elementos que están involucrados en la regulación de la estabilidad del mRNA. El mRNA eucariótico típico tiene una secuencia no codificadora 5’ (NCS 5’), una región codificadora, y una NCS 3’. Todas poseen un casquete o capuchón en el extremo 5’, y casi todas tienen una cola de poliadenilato en el extremo 3’. La cubierta 5’ y la cola poli(A) 3’ protegen al mRNA contra ataque por exonucleasa. Se cree que las estructuras de tallo-asa en la NCS 5’ y 3’, características en la secuencia de codificación, y la región rica en AU en la NCS 3’, tienen funciones en la estabilidad del mRNA.

codifica para histona H4, por ejemplo, se degrada en la dirección 3′ a 5′, pero sólo después de que ocurre un corte endonucleolítico único a unos nueve nucleótidos del extremo 3′ en la región de la estructura de tallo-asa putativa. Las estructuras de tallo-asa en la secuencia no codificadora 3′ también son cruciales para la regulación, por hierro, del mRNA que codifica para el receptor de transferrina. Las estructuras en tallo-asa también se relacionan con la estabilidad del mRNA en bacterias, lo que sugiere que este mecanismo quizá sea común.

Otras secuencias en los extremos 3′ de ciertos mRNA eucarióticos parecen estar involucradas en la desestabilización de estas moléculas. Como se comentó, parte de esto está mediado por la acción de miRNA específicos. Además, despiertan particular interés las regiones ricas en AU, muchas de las cuales contienen la secuencia AUUUA. Esta secuencia aparece en mRNA que tienen vida media muy breve, entre ellos algunos que codifican para proteínas oncogén y citocinas. La importancia de esta región es subrayada por un experimento en el cual una secuencia que corresponde al UTR 3′ del mRNA que codifica para el factor estimulante de colonia (CSF) de vida breve, que contiene un motivo AUUUA, se añadió al extremo 3′ del mRNA que codifica para la globina β. En lugar de hacerse muy estable, este mRNA que codifica para globina β híbrido ahora tuvo la vida media breve característica del mRNA que codifica para el CSF. Gran parte de este metabolismo del mRNA ocurre en los **cuerpos P** citoplásmicos.

A partir de los ejemplos citados, está claro que se usan varios mecanismos para regular la estabilidad y, por ende, la función, del mRNA, del mismo modo que se emplean varios mecanismos para regular la síntesis de mRNA. La regulación coordinada de estos dos procesos confiere notoria adaptabilidad a la célula.

RESUMEN

- Casi todas las constituciones genéticas de células somáticas de metazoario son idénticas.
- El fenotipo (especi cidad de tejido o célula) está dictado por diferencias de la expresión génica de la totalidad de estos genes.
- Las alteraciones de la expresión de gen permiten a una célula adaptarse a cambios ambientales, indicios vinculados con el desarrollo, y señales siológicas.
- La expresión génica puede controlarse en múltiples niveles por cambios en la transcripción, el procesamiento de RNA, la ubicación, y la estabilidad o utilización. La ampli cación y los reordenamientos de gen también in uyen sobre la expresión génica.
- Los controles de la transcripción operan en el ámbito de interacciones entre proteína y DNA, y entre una proteína y otra. Estas interacciones despliegan modularidad y especi cidad alta de dominio de proteína.
- En factores de transcripción se han identi cado varias clases diferentes de dominios de unión a DNA.
- Las modi caciones de cromatina y DNA contribuyen de manera importante en el control de la transcripción eucariótica al modular la accesibilidad al DNA y especi car el reclutamiento de coactivadores y correpresores especí cos hacia genes blanco.
- miRNA y siRNA modulan la traducción y la estabilidad del mRNA; estos mecanismos complementan controles de la transcripción para regular la expresión de gen.

REFERENCIAS

Bhaumik SR, Smith E, Shilatifard A: Covalent modifications of histones during development and disease pathogenesis. Nat Struct Mol Biol 2007;14;1008.

Bing L, Carey M, Workman, J: The role of chromatin during transcription. Cell 2007;128:707.

Bird AP, Wolffe AP: Methylation-induced repression—belts, braces and chromatin. Cell 1999;99:451.

Busby S, Ebright RH: Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. Cell 1994;79:743.

Busby S, Ebright RH: Transcription activation by catabolite activator protein (CAP). J Mol Biol 1999;293:199.

Jacob F, Monod J: Genetic regulatory mechanisms in protein synthesis. J Mol Biol 1961;3:318.

Lemon B, Tjian R: Orchestrated response: a symphony of transcription factors for gene control. Genes Dev 2000; 14:2551.

Letchman DS: Transcription factor mutations and disease. N Engl J Med 1996;334:28.

Merika M, Thanos D: Enhanceosomes. Curr Opin Genet Dev 2001;11:205.

Naar AM, Lemon BD, Tjian R: Transcriptional coactivator complexes. Annu Rev Biochem 2001;70:475.

Narlikar GJ, Fan HY, Kingston RE: Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. Cell 2002;108:475.

Oltz EM: Regulation of antigen receptor gene assembly in lymphocytes. Immunol Res 2001;23:121.

Ptashne M: *A Genetic Switch*, 2nd ed. Cell Press and Blackwell Scientific Publications, 1992.

Roeder RG: Transcriptional regulation and the role of diverse coactivators in animal cells. FEBS Lett 2005;579:909.

Ruthenburg AJ, et al: Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding molecules. Nature Rev Mol Cell Bio 2007;8:983.

Segal E, et al: A genomic code for nucleosome positioning. Nature 2006;442:772.

Sterner DE, Berger SL: Acetylation of histones and transcription-related factors. Microbiol Mol Biol Rev 2000;64:435.

Valencia-Sanchez ME, Liu J, Hannon GJ, Parker R: Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and SiRNAs. Genes Dev 2006;20:515.

Weake VM, Workman JL: Histone ubiquitination: triggering gene activity. Mol Cell 2008;29:653.

Yang XJ, Seto E: HATs and HDACs: from structure, function and regulation to nnovel strategies for therapy and prevention. Oncogene 2007;26:5310.

Wu R, Bahl CP, Narang SA: Lactose operator-repressor interaction. Curr Top Cell Regul 1978;13:137.

Genética molecular, DNA recombinante y tecnología genómica

CAPÍTULO

39

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA*

El desarrollo del DNA recombinante, los microarreglos de DNA de alta densidad, la investigación de alta capacidad de procesamiento, los análisis de bajo costo a escala de genoma, así como la secuenciación de DNA y otras metodologías de genética molecular, han revolucionado la biología y cada vez tienen más repercusiones sobre la medicina clínica. Aun cuando se ha aprendido mucho acerca de la enfermedad genética en seres humanos a partir del análisis de árbol genealógico y el estudio de las proteínas afectadas, estos métodos no pueden usarse en muchos casos en los cuales se desconoce el defecto genético específico. Las nuevas tecnologías sortean estas limitaciones al ir de forma directa a la molécula de DNA para obtener información. La manipulación de una secuencia de DNA y la construcción de moléculas quiméricas —la denominada ingeniería genética— proporcionan un medio para estudiar cómo funciona un segmento de DNA.

Por otro lado, los nuevos recursos que se dan para la genética molecular y la secuenciación directa de DNA permiten a los investigadores hacer preguntas y manipular secuencias genómicas, así como examinar perfiles tanto de mRNA como de proteínas celulares en el ámbito molecular.

El entendimiento de esta tecnología tiene importancia por varias razones: 1) ofrece un método racional para entender la base molecular de diversas enfermedades, por ejemplo, la hipercolesterolemia familiar, la enfermedad de células falciformes, las talasemias, fibrosis quística, distrofia muscular, así como enfermedades multifactoriales más complejas, como enfermedad vascular, cáncer y diabetes. 2) Es posible producir proteínas de origen humano en abundancia para terapia (p. ej., insulina, hormona de crecimiento, activador del plasminógeno hístico). 3) Pueden obtenerse proteínas para vacunas (p. ej., hepatitis B) y para pruebas diagnósticas (p. ej., análisis para Ébola y SIDA). 4) Esta tecnología se usa para diagnosticar enfermedades existentes y predecir el riesgo de aparición de una enfermedad dada y la respuesta individual a la farmacoterapia. 5) Técnicas especiales han llevado a notorios avances en medicina forense. 6) Es factible idear terapia génica para, en potencia, curar enfermedades causadas por una deficiencia de un gen único, como la enfermedad de células falciformes, las talasemias, la deficiencia de adenosina desaminasa, y otras.

*Véase el glosario al nal de este capítulo.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE COMPRENDE AISLAMIENTO Y MANIPULACIÓN DE DNA PARA HACER MOLÉCULAS QUIMÉRICAS

El aislamiento y la manipulación de DNA, incluso unión extremo con extremo terminal de secuencias de fuentes muy distintas para hacer moléculas quiméricas (p. ej., moléculas que contienen secuencias de DNA tanto de ser humano como bacterianas de un modo independiente de secuencia), es la esencia de la investigación del DNA recombinante. Esto incluye varias técnicas y reactivos únicos.

Las enzimas de restricción cortan cadenas de DNA en ubicaciones específicas

Ciertas endonucleasas —enzimas que cortan el DNA en secuencias de DNA específicas dentro de la molécula (en contraposición con las exonucleasas, que digieren desde los extremos de las moléculas de DNA)— son un recurso clave en la investigación del DNA recombinante. Estas enzimas se llamaron **enzimas de restricción** porque su presencia en una bacteria dada restringió el crecimiento de ciertos virus de bacterias denominados bacteriófagos. Las enzimas de restricción cortan el DNA de cualquier fuente en fragmentos cortos únicos de una manera específica para secuencia, en contraste con casi todos los otros métodos enzimáticos, químicos o físicos, que rompen el DNA al azar. Estas enzimas defensivas (se han descubierto cientos) protegen al DNA de la bacteria huésped contra el genoma de DNA de organismos extraños (sobre todo fagos infecciosos) al desactivar de modo específico el DNA del fago invasor por medio de digestión. Sin embargo, sólo se encuentran en células que también tienen una enzima acompañante que metila al DNA huésped, lo que hace que sea un sustrato poco idóneo para digestión por la propia enzima de restricción. Así, las **DNA metilasas específicas para sitio** y las enzimas de restricción siempre existen en pares en una bacteria.

Las enzimas de restricción se denominan con base en la bacteria a partir de la cual fueron aisladas. Por ejemplo, *EcoRI* proviene de *Escherichia coli,* y *BamHI,* de *Bacillus amyloliquefaciens* (cuadro 39-1). Las primeras tres letras del nombre de la enzima de restricción constan de la primera letra del género *(E)* y las primeras dos letras de la especie *(co)*. Éstas pueden ir seguidas por designación de cepa *(R)* y un número romano *(I)* para indicar el orden de descubrimiento (p. ej., *EcoRI, EcoRII*). Cada enzima reconoce y divide una secuencia de DNA bicatenario específica que típicamente

CUADRO 39-1 Endonucleasas de restricción seleccionadas y sus especificidades de secuencia

Endonucleasa	Sitios de división reconocidos de secuencia mostrados	Fuente bacteriana
BamHI	GGATCC CCTACC	*Bacillus amyloliquefaciens* H
BglII	AGATCT TCTAGA	*Bacillus glolbigii*
EcoRI	GAATTC CTTAAC	*Escherichia coli* RY13
EcoRII	CCTGG GGACC	*Escherichia coli* R245
HindIII	AAGCTT TTCGAA	*Haemophilus in uenzae* R_d
HhaI	GCGC CGCG	*Haemophilus haemolyticus*
HpaI	GTTAAC CAATTC	*Haemophilus parain uenzae*
MstII	CCTnAGG GGAnTCC	*Microcoleus strain*
PstI	CTGCAG GACGTC	*Providencia stuartii* 164
TaqI	TCGA AGCT	*Thermus aquaticus* YTI

Abreviaturas: A, adenina; C, citosina; G, guanina; T, timina.
Las echas muestran el sitio de división; según el sitio, los extremos del DNA bicatenario dividido resultante se denominan extremos pegajosos (*BamHI*) o extremos romos (*HpaI*). La longitud de la secuencia de reconocimiento puede ser de 4 bp (*TaqI*), 5 bp (*EcoRII*), 6 bp (EcoRI), o 7 bp (*MstII*) o más. Por tradición, se escriben en la dirección 5' a 3' para la cadena superior de cada secuencia de reconocimiento, y la cadena inferior se muestra con la polaridad opuesta (es decir, 3' a 5'). Note que casi todas las secuencias de reconocimiento son palíndromos (esto es, la secuencia se lee igual en direcciones opuestas en las dos cadenas). Un residuo designado N signi ca que se permite cualquier nucleótido.

tiene 4 a 7 bp de largo. Estos cortes en el DNA dan por resultado **extremos romos** (p. ej., *HpaI*) o que se superponen **(pegajosos o cohesivos)** (p. ej., BamHI) (fig. 39-1), según el mecanismo usado por la enzima. Los extremos pegajosos son en especial útiles para construir moléculas de DNA híbridas o quiméricas (véase más adelante). Si los cuatro nucleótidos están distribuidos al azar en una molécula de DNA dada, es posible calcular la frecuencia con la cual una enzima dada cortará un tramo de DNA. Para cada posición en la molécula de DNA, hay cuatro posibilidades (A, C, G y T); en consecuencia, una enzima de restricción que reconoce una secuencia de 4 bp, corta, en promedio, una vez cada 256 bp (4^4), mientras que otra enzima que reconoce una secuencia de 6 bp, corta una vez cada 4 096 bp (4^6). Un fragmento dado de DNA tiene una disposición lineal característica de sitios para las diversas enzimas, dictada por la secuencia lineal de sus bases; por ende, es posible construir un **mapa de restricción**. Cuando el DNA se digiere con una enzima particular, los extremos de todos los fragmentos tienen la misma secuencia de DNA. Los fragmentos producidos se pueden aislar mediante electroforesis en gel de agarosa o de poliacrilamida (véase la exposición de la electrotransferencia, más adelante); éste es un paso esencial en la clonación del DNA, así como en diversos análisis de DNA y un uso importante de estas enzimas.

Varias otras enzimas que actúan sobre el DNA y RNA son una parte importante de la tecnología de DNA recombinante. Se hace referencia a muchas de éstas en este capítulo y en otros subsiguientes (cuadro 39-2).

Las enzimas de restricción y la DNA ligasa se usan para preparar moléculas de DNA quiméricas

La ligación de extremo pegajoso es fácil desde el punto de vista técnico, pero suelen requerirse algunas técnicas particulares para superar problemas inherentes en este método. Los extremos pegajosos de un vector pueden reconectarse consigo mismos, sin ganancia neta de DNA. Los extremos pegajosos de fragmentos también se renaturalizan de manera que se forman insertos en tándem heterogéneos. Asimismo, los sitios de extremo pegajoso quizá no estén disponibles o en una posición conveniente. Para sortear estos problemas, es factible emplear una enzima que genera extremos romos, mismos que se pueden ligar de modo directo; empero, la ligadura no es direccional. De esta manera, hay dos alternativas: se añaden nuevos extremos usando la enzima transferasa terminal o se añaden extremos pegajosos sintéticos. Si se añade poli d(G) a los extremos 3′ del vector, y se adiciona poli d(C) a los extremos 3′ del DNA extraño usando transferasa terminal, las dos moléculas únicamente pueden renaturalizarse una con otra, lo que sortea los problemas antes listados. Este procedimiento recibe el nombre de colocación de cola de homopolímero. De modo alternativo, enlazadores de oligonucleótido dúplex, con extremo romo, sintéticos, que contienen la secuencia de reconocimiento para una secuencia de enzima de restricción conveniente, se ligan al DNA con extremo romo. La ligadura de extremo romo directa se logra usando la enzima bacteriófago T4

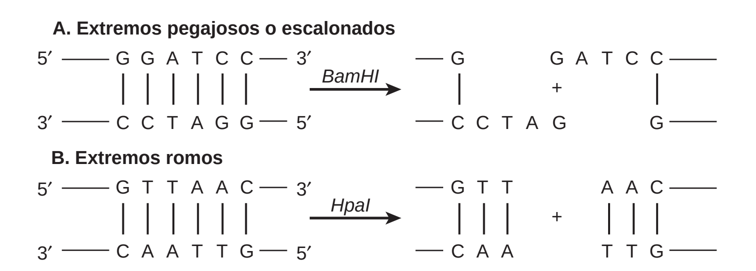


FIGURA 39-1 Resultados de la digestión con endonucleasa de restricción. La digestión con una endonucleasa de restricción puede dar por resultado la formación de fragmentos de DNA con extremos pegajosos, o cohesivos **(A)** o romos **(B).** Es una consideración importante al idear estrategias de clonación.

CUADRO 39-2 Algunas de las enzimas usadas en la investigación de DNA recombinante

Enzima	Reacción	Uso primario
Fosfatasa alcalina	Desfosforila extremos 5' de RNA y DNA	Eliminación de grupos 5'-PO_4 antes de marcado con cinasa; también se emplea para impedir autoligadura
BAL 31 nucleasa	Degrada los extremos tanto 3' cómo 5' de DNA	Acortamiento progresivo de moléculas de DNA
DNA ligasa	Cataliza enlaces entre moléculas de DNA	Unión de moléculas de DNA
DNA polimerasa I	Sintetiza DNA bicatenario a partir de DNA monocatenario	Síntesis de cDNA bicatenario; traducción de muesca; generación de extremos romos a partir de extremos pegajosos
DNasa I	En condiciones apropiadas, produce muescas de una sola cadena en el DNA	Traducción de muesca; mapeo de sitios hipersensibles; mapeo de interacciones entre proteína y DNA
Exonucleasa III	Elimina nucleótidos de los extremos 3' del DNA	Secuenciación de DNA; mapeo de interacciones entre DNA y proteína
λ Exonucleasa	Elimina nucleótidos de los extremos 5' del DNA	Secuenciación de DNA
Polinucleótido cinasa	Transfiere fosfato terminal (posición gamma) desde ATP hacia grupos 5'-OH del DNA o el RNA	Marcado terminal ^{32}P de DNA o RNA
Transcriptasa inversa	Sintetiza DNA a partir de la plantilla de RNA	Síntesis de cDNA a partir de mRNA; estudios de mapeo de RNA (extremo 5')
S1 nucleasa	Degrada DNA monocatenario	Eliminación de "horquilla" en la síntesis de cDNA; estudios de mapeo de RNA (extremos tanto 5' como 3')
Terminal transferasa	Añade nucleótidos a los extremos 3' del DNA	Fijación de cola de homopolímero

(Adaptado y reproducido, con autorización, de Emery AEH: Page 41 in: *An Introduction to Recombinant DNA*. Wiley, 1984. Copyright © 1984 John Wiley & Sons Limited. Reproducido con autorización.)

DNA ligasa. Esta técnica, si bien es menos eficiente que la ligadura de extremo pegajoso, plantea la ventaja de unir cualesquiera pares de extremos. Si se usan métodos de extremos romos o de colocación de cola de homopolímero, no hay una manera fácil de recuperar el inserto. Como un adjunto para el uso de endonucleasas de restricción, los científicos han utilizado recombinasas procarióticas o eucarióticas específicas (como sitios lox P bacterianos, que son reconocidos por la CRE recombinasa, o sitios FRT de levadura, reconocidos por la Flp recombinasa) para catalizar la incorporación específica de dos fragmentos de DNA que portan las secuencias de reconocimiento apropiadas. Estas enzimas catalizan recombinación homóloga entre los sitios de reconocimiento importantes.

La clonación amplifica el DNA

Una **clona** es una población grande de moléculas, bacterias o células idénticas que surgen a partir de un ancestro común. La clonación molecular permite la producción de un gran número de moléculas de DNA idénticas, que a continuación se caracterizan o se usan para otros propósitos. Esta técnica se basa en el hecho de que moléculas de DNA quiméricas o híbridas pueden construirse en **vectores de clonación** —típicamente plásmidos, fagos o cósmidos bacterianos— que después se siguen replicando en una célula huésped bajo sus propios sistemas de control. De este modo, el DNA quimérico se amplifica. El procedimiento general se ilustra en la figura 39-2.

Los **plásmidos** bacterianos son moléculas de DNA pequeñas, circulares, dúplex, cuya función natural es conferir resistencia a antibiótico a la célula huésped. Los plásmidos tienen varias propiedades que los hacen en extremo útiles como vectores de clonación. Existen como copias únicas o múltiples dentro de la bacteria y se replican de manera independiente del DNA bacteriano. Se conoce la secuencia de DNA completa de muchos plásmidos; por consiguiente, se dispone de la ubicación precisa de sitios de corte de enzima de restricción para insertar el DNA extraño. Los plásmidos son de menor tamaño que el cromosoma del huésped y, por tanto, se separan con facilidad de este último, y el DNA insertado en plásmido deseado se elimina con facilidad al cortar el plásmido con la enzima específica para el sitio de restricción en el cual se insertó el fragmento original de DNA.

Los **fagos (virus de bacterias)** por lo general tienen moléculas de DNA lineales en las que puede insertarse DNA extraño en varios sitios de corte para enzima de restricción. El DNA quimérico se recolecta luego de que el fago procede por su ciclo lítico y produce partículas de fago infecciosas, maduras. Una ventaja importante de los vectores fago es que mientras que los plásmidos aceptan fragmentos de DNA de alrededor de 6 a 10 kb de largo, los fagos pueden aceptar fragmentos de DNA de 10 a 20 kb de largo, limitación impuesta por la cantidad de DNA que puede aglomerarse en la cabeza del fago.

Fragmentos de mayor tamaño de DNA se pueden clonar en **cósmidos**, que combinan las mejores características de los plásmidos y los fagos. Los cósmidos son plásmidos que contienen las secuencias de DNA, denominadas **sitios cos**, necesarias para empacar DNA del bacteriófago lambda hacia la partícula fago. Estos vectores crecen en la forma de plásmido en bacterias, pero dado que se ha eliminado gran parte del DNA lambda innecesario, puede aglomerarse más DNA quimérico en la cabeza de la partícula. Con cierta frecuencia los cósmidos portan insertos de DNA quimérico que tienen 35 a 50 kb de largo. Pueden incorporarse fragmentos de DNA de tamaño aún mayor hacia cromosoma artificial bacteriano **(BAC)**, cromosoma artificial de levadura **(YAC)**, o vectores basados en P1 el bacteriófago de **(PAC)** *E. coli*. Estos vectores aceptarán y propagarán insertos de DNA de varios cientos de kilobases o más, y en su mayor parte han remplazado a los vectores plásmido, fago y cósmido

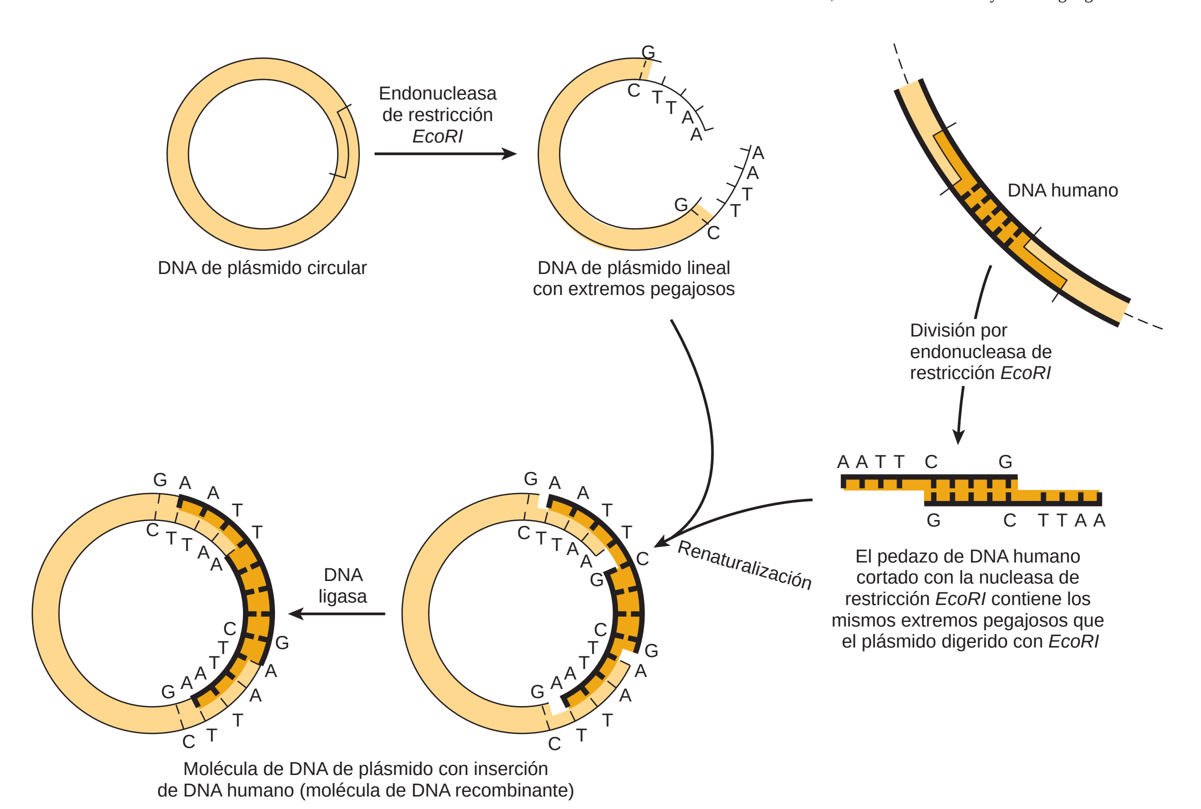


FIGURA 39-2 Uso de nucleasas de restricción para hacer nuevas moléculas de DNA recombinantes o quiméricas. Cuando se inserta de regreso hacia una célula bacteriana (por medio del proceso llamado transformación), una célula única típicamente sólo capta un plásmido único, y el DNA del plásmido se replica no sólo a sí mismo, sino también el inserto de DNA nuevo enlazado físicamente. Dado que la recombinación de los extremos pegajosos, como se indica, regenera la misma secuencia de DNA reconocida por la enzima de restricción original, el inserto de DNA clonado puede cortarse limpiamente de regreso hacia afuera del círculo de plásmido recombinante con esta endonucleasa. Si se usa como la fuente de DNA de ser humano una mezcla de todos los fragmentos de DNA creados mediante tratamiento de DNA humano total con una nucleasa de restricción única, pueden obtenerse alrededor de un millón de diferentes tipos de moléculas de DNA recombinante, cada una pura en su propia clona bacteriana. (Modificada y reproducida, con autorización, de Cohen SN: The manipulation of genes. Sci Am [July] 1975;233:25. Copyright © The Estate of Bunji Tagawa.)

para algunas aplicaciones de clonación y mapeo de gen. En el cuadro 39-3 se comparan estos vectores.

Puesto que la inserción de DNA hacia una región funcional del vector interferirá con la acción de esta región, es necesario tener cuidado de no interrumpir una función esencial del vector. Con todo, este concepto se puede explotar para proporcionar una técnica de selección. Por ejemplo, un reactor plásmido temprano común **pBR322** tiene genes que codifican para resistencia tanto a **tetraciclina (tet)** como a **ampicilina (amp)**. Un sitio de corte por enzima de restricción *PstI* único dentro del gen que codifica para resistencia a AMP a menudo se usa como el sitio de inserción para un fragmento de DNA extraño. Además de tener extremos pegajosos (cuadro 39-1 y fig. 39-1), el DNA insertado en este sitio altera el gen que codifica para resistencia a AMP, y hace a la bacteria que porta este plásmido sensible a amp (fig. 39-3). Así, el plásmido padre, que proporciona resistencia a ambos antibióticos, puede separarse con facilidad del plásmido quimérico, que sólo es resistente a tetraciclina. Los YAC contienen funciones de selección, replicación y segregación que actúan tanto en bacterias como en células de levadura y, en consecuencia, pueden propagarse en uno u otro organismo.

Además de los vectores descritos en el cuadro 39-3, diseñados principalmente para propagación en células bacterianas, se han creado vectores para propagación en células de mamífero y para insertar expresión de gen (cDNA)/proteína. Todos estos vectores se basan en diversos virus eucarióticos que están compuestos de genomas de RNA o DNA. Los ejemplos notables de esos **vectores virales** son los que utilizan genomas **adenovirales (Ad)**, o **virus asociados con adenovirus (AAV)** (basados en DNA) y **retrovirales** (basados en RNA). Aunque un poco limitados en el tamaño de secuencias de DNA que pueden insertarse, esos **vectores de clonación virales de mamífero** compensan este punto débil porque infectarán con eficiencia una amplia gama de diferentes tipos de célula. Por este motivo, diversos vectores virales de mamífero están bajo investigación para uso en **terapia génica**, y se utilizan con mayor frecuencia para experimentos de laboratorio.

CUADRO 39-3 Capacidades de clonación de vectores de clonación comunes

Vector	Tamaño del inserto de DNA (kb)
Plásmido pBR322	0.01 a 10
Lambda charon 4A	10 a 20
Cósmidos	35 a 50
BAC, P1	50 a 250
YAC	500 a 3 000

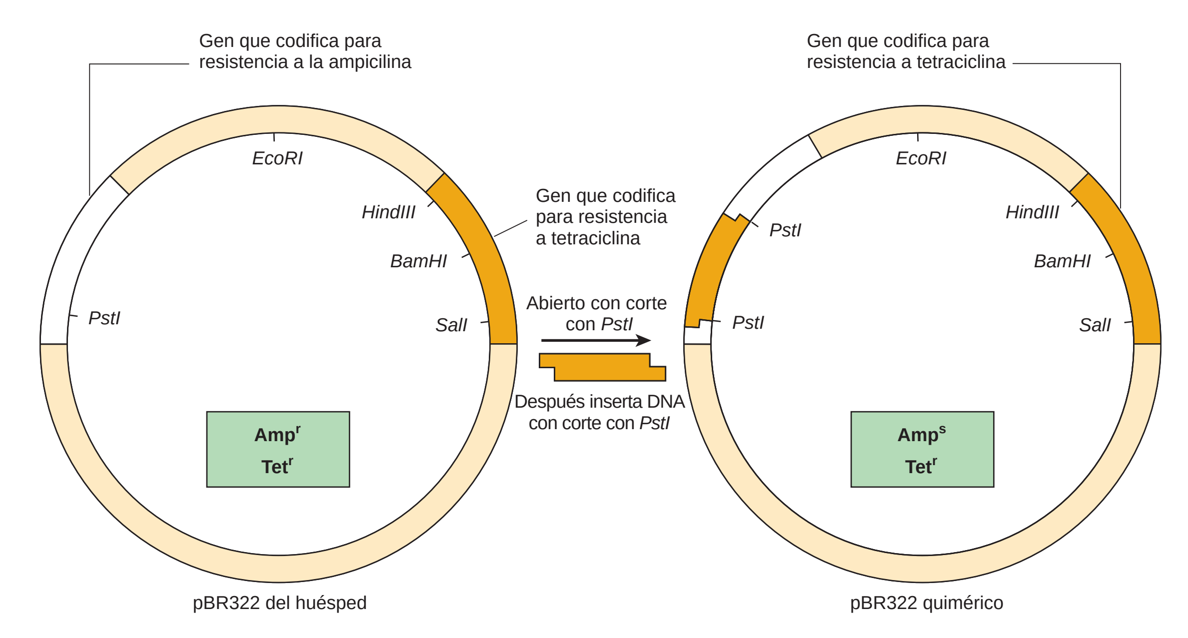


FIGURA 39-3 Un método de investigar recombinantes para fragmentos de DNA insertados. Al emplear el plásmido pBR322, se inserta un fragmento de DNA en el sitio de *PstI* único. Esta inserción altera la codificación de gen para una proteína que proporciona a la bacteria huésped resistencia a ampicilina. Por consiguiente, las células que portan el plásmido quimérico ya no sobrevivirán cuando se colocan en una placa con un medio de sustrato que contiene este antibiótico. Por tanto, la sensibilidad diferencial a la tetraciclina y ampicilina puede usarse para distinguir clonas de plásmido que contienen un inserto. Un esquema similar que se fundamenta en la producción de una fusión dentro de cuadro de un DNA recién insertado que da por resultado un fragmento peptídico capaz de complementar una forma eliminada, inactiva, de la enzima β-galactosidasa, permite la formación de colonias de color azul-blanco sobre placas de agar que contienen un colorante hidrolizable por medio de β–galactósido. Las colonias positivas para β-galactosidasa son de color azul; esas colonias contienen plásmidos en los cuales se insertó con éxito un DNA.

Una biblioteca es una colección de clonas recombinantes

La combinación de enzimas de restricción y diversos vectores de clonación permite que todo el genoma de un organismo se aglomere de forma individual en un vector. Una colección de estas clonas recombinantes diferentes se llama biblioteca. Una **biblioteca genómica** se prepara a partir del DNA total de una línea celular o un tejido. Una **biblioteca de cDNA** comprende copias de DNA complementarias de la población del mRNA en un tejido. Las bibliotecas de DNA genómicas suelen prepararse al efectuar **digestión parcial del DNA total** con una enzima de restricción que corta DNA con frecuencia (p. ej., un cortador de cuatro bases como *TaqI*). La idea es generar más bien fragmentos grandes de modo que casi todos los genes se dejarán intactos. Se prefieren los vectores BAC, YAC y P1 porque pueden aceptar fragmentos muy grandes de DNA y, de esta manera, ofrecen una mejor oportunidad de aislar un gen que codifica para mRNA eucariótico intacto en un fragmento de DNA único.

Un vector en el cual en realidad se sintetiza la proteína codificada por el gen introducido por medio de tecnología de DNA recombinante se conoce como un **vector de expresión**. Esos vectores ahora suelen usarse para detectar moléculas de cDNA específicas en bibliotecas y producir proteínas mediante técnicas de ingeniería genética. Estos vectores están construidos en especial para contener promotores inducibles muy activos, codones de inicio de la traducción en fase apropiados, señales de terminación tanto de la transcripción como de la traducción, y señales de procesamiento de proteína apropiadas, si es necesario. Algunos vectores de expresión incluso contienen genes que codifican para inhibidores de proteasa, de modo que el rendimiento final del producto aumenta. Es interesante que conforme el costo de las síntesis de DNA sintético ha disminuido, muchos investigadores a menudo sintetizan un cDNA completo (gen) de interés (en segmentos de 100 a 150 nt) que incorpora las preferencias de codones del huésped usado para la expresión con el fin de maximizar la producción de proteína recombinante.

Las sondas buscan bibliotecas o muestras complejas para genes o moléculas de cDNA específicos

Diversas moléculas pueden emplearse para “sondear” bibliotecas en la búsqueda de un gen o una molécula de cDNA específico o definir y cuantificar DNA o RNA separado por medio de electroforesis mediante diversos geles. Las sondas regularmente son fragmentos de DNA o RNA marcados con un nucleótido que contiene ^{32}P, o nucleótidos marcados con fluorescencia (más a menudo ahora). Es importante señalar que ni una ni otra modificación (marcado con ^{32}P o fluorescente) afecta las propiedades de hibridación de las sondas de ácido nucleico marcadas resultantes. Para que sea eficaz, es necesario que la sonda reconozca una secuencia complementaria. Un cDNA sintetizado a partir de un mRNA específico puede usarse para sondear una biblioteca de cDNA para buscar un cDNA de mayor tamaño, o una biblioteca genómica para buscar una secuencia complementaria en la región codificadora de un gen. Una técnica popular para encontrar genes específicos conlleva tomar una secuencia de aminoácidos corta y, empleando el uso de codón para esa especie (cap. 37), hacer una sonda de oligonucleótido que detectará

el fragmento de DNA correspondiente en una biblioteca genómica. Si las secuencias coinciden exactamente, sondas de 15 a 20 nucleótidos de largo se hibridarán. Las sondas de cDNA se usan para detectar fragmentos de DNA en las electrotransferencias Southern, y para detectar y cuantificar RNA en electrotransferencias Northern. Anticuerpos específicos también pueden emplearse como sondas con tal de que el vector usado sintetice moléculas de proteína que son reconocidas por ellos.

Técnicas de electrotransferencia e hibridación permiten visualización de fragmentos específicos

La visualización de un fragmento de DNA o RNA específico entre los muchos miles de moléculas "contaminantes" en una muestra compleja requiere la convergencia de diversas técnicas, denominadas en conjunto **electrotransferencia**. En la figura 39-4 se ilustran los procedimientos de electrotransferencia **Southern** (DNA), **Northern** (RNA) y **Western** (proteína). (El primero se denomina en honor a quien ideó la técnica [Edward Southern], y los otros nombres empezaron como jerga de laboratorio, pero ahora son términos aceptados.) Estos procedimientos son útiles para determinar cuántas copias de un gen hay en un tejido dado, o si hay alguna alteración gruesa en un gen (deleciones, inserciones o reordenamientos) porque el paso de electroforesis que constituye un requisito separa las moléculas con base en el tamaño. A veces, si una base específica se cambia y un sitio de restricción se altera, estos procedimientos pueden detectar una mutación puntual. Las técnicas de electrotransferencia Northern y Western se usan para medir y cuantificar moléculas de RNA y proteínas específicas, respectivamente. Una cuarta técnica de hibridación, la electrotransferencia **Southwestern**, examina interacciones entre proteína y DNA (que no se muestran). En este método, las proteínas se separan por medio de electroforesis, se electrotransfieren a una membrana, se hibridan, y son analizadas para buscar una interacción con una secuencia particular mediante incubación con una sonda de DNA marcada específica.

La **colonia o hibridación de placa** es el método por medio del cual clonas específicas se identifican y purifican. Las bacterias se cultivan como colonias en una placa de agar, y son cubiertas con un papel filtro de nitrocelulosa orientado. Las células de cada colonia se pegan al filtro y se fijan de manera permanente al mismo mediante calor o rayos UV, que con tratamiento con NaOH también lisa las células y desnaturaliza el DNA de manera que está disponible para hibridarlo con la sonda. Se añade una sonda radiactiva al filtro y (después de lavado) el complejo híbrido se localiza por medio de exposición del filtro a una película de rayos X o una pantalla de imágenes. Al hacer coincidir la mancha sobre la autorradiografía (placa de rayos X expuesta y revelada) con una colonia, esta última se puede recoger de la placa. Se usa una estrategia similar para identificar fragmentos en bibliotecas de fago. Rondas sucesivas de este procedimiento dan por resultado un aislado clonal (una colonia de bacterias) o una placa de fago individual.

Todos los procesos de hibridación que se comentan en esta sección dependen de las propiedades de formación de pares de bases específicas de cadenas de ácido nucleico complementarias antes descritas. Los apareamientos perfectos se hibridan con facilidad y soportan temperaturas altas en las reacciones de hibridación y lavado. También se forman complejos específicos en presencia de concentraciones bajas de sal. Los apareamientos menos que perfectos no toleran estas **condiciones difíciles** (es decir, temperaturas altas y concentraciones bajas de sal); de este modo, la hibridación nunca ocurre o queda alterada durante el paso de lavado. Las familias de genes, en las cuales hay cierto grado de homología, pueden detectarse al variar lo riguroso de los pasos de hibridación y lavado. Con este método también pueden hacerse comparaciones de un gen dado a través de especies. Se han ideado condiciones de hibridación capaces de detectar sólo un error de apareamiento de par de base única entre la sonda y el blanco.

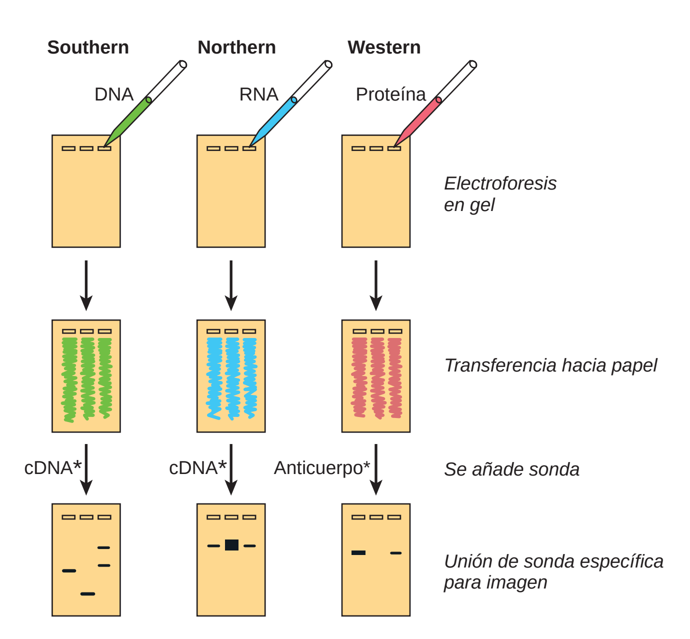


FIGURA 39-4 Procedimiento de electrotransferencia. En una electrotransferencia Southern, o de DNA, el DNA aislado a partir de una línea celular o de un tejido se digiere con una o más enzimas de restricción. Esta mezcla se transfiere con pipeta hacia un pozo en un gel de agarosa o de poliacrilamida, y se expone a una corriente eléctrica directa. El DNA, al tener carga negativa, migra hacia el ánodo; los fragmentos de menor tamaño se mueven con mayor rapidez. Luego de un tiempo idóneo, el DNA que está dentro del gel se desnaturaliza mediante exposición a álcalis leves, y se transfiere hacia papel de nitrocelulosa o nailon, lo que origina una réplica exacta del modelo en el gel, por medio de la técnica de electrotransferencia ideada por Southern. El DNA se une al papel mediante exposición a calor o rayos UV, y a continuación el papel se expone a la sonda de cDNA marcada, que se hibrida hacia fragmentos complementarios en el filtro. Después de lavado exhaustivo, el papel es expuesto a placa de rayos X, que se revela para mostrar varias bandas específicas que corresponden al fragmento de DNA que reconoció las secuencias en la sonda de cDNA. La electrotransferencia de RNA, o Northern, es similar desde el punto de vista conceptual. El RNA se sujeta a electroforesis antes de electrotransferencia. Esto necesita algunos pasos diferentes de los de la transferencia de DNA, principalmente para asegurar que el RNA permanezca intacto, y por lo general es un poco más difícil. En la electrotransferencia de proteína o Western, las proteínas se someten a electroforesis y se transfieren hacia papel especial que se une con avidez a macromoléculas, y luego se sondea con un anticuerpo específico u otra molécula sonda. (Los asteriscos significan marcado, sea radiactivo o fluorescente.) En el caso de la electrotransferencia Southwestern (véase el texto; no se muestra), una electrotransferencia de proteína similar a la que se muestra arriba bajo "Western" se expone a ácido nucleico marcado, y los complejos de proteína-ácido nucleico formados se detectan por medio de autorradiografía.

Hay técnicas manuales y automatizadas para determinar la secuencia de DNA

Los segmentos de moléculas de DNA específicas obtenidas mediante tecnología de DNA recombinante se pueden analizar para determinar su secuencia de nucleótido. Este método depende de tener un número grande de moléculas de DNA idénticas. Este requisito puede satisfacerse al clonar el fragmento de interés, usando las técnicas antes descritas. En el **método enzimático manual (Sanger)** se emplean desoxinucleótidos específicos que terminan la síntesis de cadena de DNA en nucleótidos específicos a medida que la cadena se sintetiza sobre ácido nucleico plantilla purificado. Las reacciones se ajustan de manera que se obtiene una población de fragmentos de DNA que representan terminación en cada nucleótido. Al tener una marca radiactiva incorporada en el sitio de terminación, es posible separar los fragmentos de acuerdo con el tamaño usando electroforesis en gel de poliacrilamida. Se obtiene una autorradiografía, y cada uno de los fragmentos produce una imagen (banda) en una placa de rayos X o una placa de imágenes, las cuales se leen en orden para dar la secuencia de DNA (fig. 39-5). Otro método manual es el de **Maxam y Gilbert**, en el que se emplean **métodos químicos** para dividir las moléculas de DNA donde contienen los nucleótidos específicos. Las técnicas que no necesitan el uso de radioisótopos se emplean en la secuenciación de DNA automatizada. Con mayor frecuencia se emplea un procedimiento automatizado en el cual se usan cuatro marcas fluorescentes distintas —una representa cada nucleótido—. Cada una emite una señal específica en el momento de la excitación por un haz láser de una longitud de onda particular, y esto puede registrarse por medio de una computadora. En los aparatos de secuenciación de DNA más nuevos se usan nucleótidos marcados con fluorescencia, pero detectan incorporación usando óptica microscópica. Estos aparatos han disminuido de modo notorio, más de 100 veces, el costo de la secuenciación del DNA. Estos decrementos del costo han introducido la era de la secuenciación de genomas personalizada. De hecho, usando esta nueva tecnología se determinó por completo la secuencia del codescubridor de la doble hélice, James Watson.

La síntesis de oligonucleótido ahora es sistemática

Hoy, la síntesis química automatizada de oligonucleótidos moderadamente largos (alrededor de 100 nucleótidos) de secuencia precisa, es un procedimiento de laboratorio sistemático. Cada ciclo de síntesis requiere sólo algunos minutos, de manera que puede hacerse una molécula completa al sintetizar segmentos relativamente cortos que luego se pueden ligar entre sí. Los oligonucleótidos ahora son indispensables para la secuenciación de DNA, el sondeo de bibliotecas, las

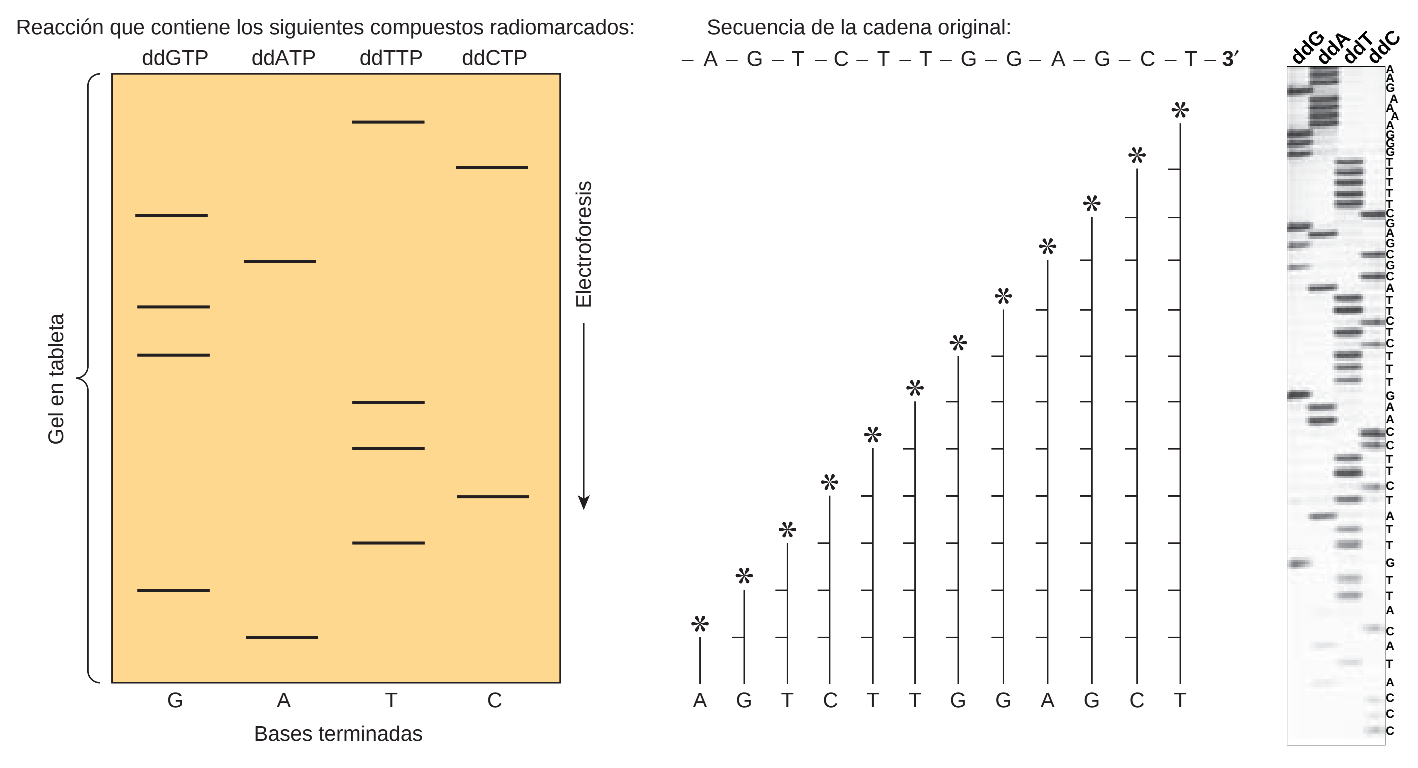


FIGURA 39-5 Secuenciación de DNA mediante el método de terminación de cadena ideado por Sanger. Las disposiciones parecidas a escalera representan, de abajo hacia arriba, todos los fragmentos sucesivamente más largos de la cadena de DNA original. Al saber cuál reacción de didesoxinucleótido específica se efectuó para producir cada mezcla de fragmentos, es posible determinar la secuencia de nucleótidos desde el extremo no marcado hacia el marcado (*) al interpretar el gel. Las reglas de formación de pares de bases identificadas por Watson y Crick (A-T, G-C) dictan la secuencia de la otra cadena (complementaria). (Los asteriscos significan el sitio de radiomarcado.) Se muestran **(izquierda, en medio)** los productos de síntesis terminados de un fragmento hipotético de DNA, así como la secuencia. Una autorradiografía **(derecha)** de un grupo real de reacciones de secuenciación de DNA en las que se emplearon los cuatro didesoxinucleótidos ^{32}P-marcados indicados en la porción superior de la autorradiografía escaneada (es decir, didesoxi(dd)G, ddA, ddT, ddC). La electroforesis se llevó a cabo de arriba hacia abajo. La secuencia de DNA deducida se lista en el lado derecho del gel. Note la relación logarítmica-lineal entre la distancia de migración (es decir, de arriba abajo del gel) y la longitud del fragmento de DNA. En los secuenciadores de DNA actuales ya no se utiliza electroforesis en gel para fraccionamiento de productos de síntesis marcados. Además, en las plataformas de secuenciación NGS, la síntesis va seguida por vigilancia de la incorporación de los cuatro dXTP marcados con fluorescencia.

valoraciones de unión entre proteína y DNA, la reacción en cadena de polimerasa (véase a continuación), la mutagénesis dirigida hacia sitio, la síntesis de gen sintético, y muchas otras aplicaciones.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR) amplifica secuencias de DNA

La PCR es un método para amplificar una secuencia blanco de DNA. La PCR proporciona un medio sensible, selectivo y en extremo rápido de amplificar cualquier secuencia de DNA deseada. La especificidad se basa en el uso de dos iniciadores oligonucleótido que se hibridan hacia secuencias complementarias en cadenas opuestas de DNA y flanquean la secuencia blanco (fig. 39-6). La muestra de DNA primero se calienta para separar las dos cadenas del DNA plantilla que contiene la secuencia blanco; se permite que los iniciadores —que se añaden en un vasto exceso— renaturalicen (templen) al DNA, y cada cadena se copia mediante una DNA polimerasa, empezando en los sitios preparadores en presencia de los 4 dXTP. Cada una de las dos cadenas de DNA sirve como una plantilla para la síntesis de DNA nuevo a partir de los dos iniciadores. Ciclos repetidos de desnaturalización con calor, renaturalización de los iniciadores a sus secuencias complementarias, y extensión de los preparadores renaturalizados con DNA polimerasa, producen la amplificación exponencial de segmentos de DNA de longitud definida (una duplicación en cada ciclo). En las reacciones de PCR tempranas se usó una DNA polimerasa de *E. coli* que se destruía con calor por cada ciclo de desnaturalización. La sustitución por una DNA polimerasa estable ante el calor, de *Thermus aquaticus* (o la DNA polimerasa correspondiente de otras bacterias termofílicas), un organismo que vive y se replica a 70 a 80°C, obvia este problema y ha hecho posible la automatización de la reacción, porque las reacciones de polimerasa pueden correrse a 70°C. Esto ha mejorado la especificidad y el rendimiento del DNA.

Es posible amplificar secuencias de DNA tan cortas como de 50 a 100 bp, y tan largas como de 10 kb; 20 ciclos proporcionan una amplificación de 10^6 (esto es, 2^{20}) y 30 ciclos, 10^9 (2^{30}). La PCR permite amplificar y analizar el DNA en una sola célula, folículo piloso o espermatozoide. Así, las aplicaciones de la PCR a la medicina forense son obvias. La PCR también se usa para: 1) detectar agentes infecciosos, en especial virus latentes; 2) hacer diagnósticos genéticos prenatales; 3) detectar polimorfismos alélicos; 4) establecer tipos de tejido exactos para trasplantes; 5) estudiar la evolución, usando DNA de muestras arqueológicas; 6) análisis de RNA cuantitativos después de copia de RNA y cuantificación de mRNA por medio del llamado método de RT-TCR (copias de cDNA de mRNA generadas mediante una transcriptasa inversa retroviral), o 7) efectuar evaluación de ocupación de proteína-DNA *in vivo* usando valoraciones de inmunoprecipitación de cromatina (véase más adelante). Hay un igual número de aplicaciones de la PCR a problemas en ciencia básica, y cada año se crean usos nuevos.

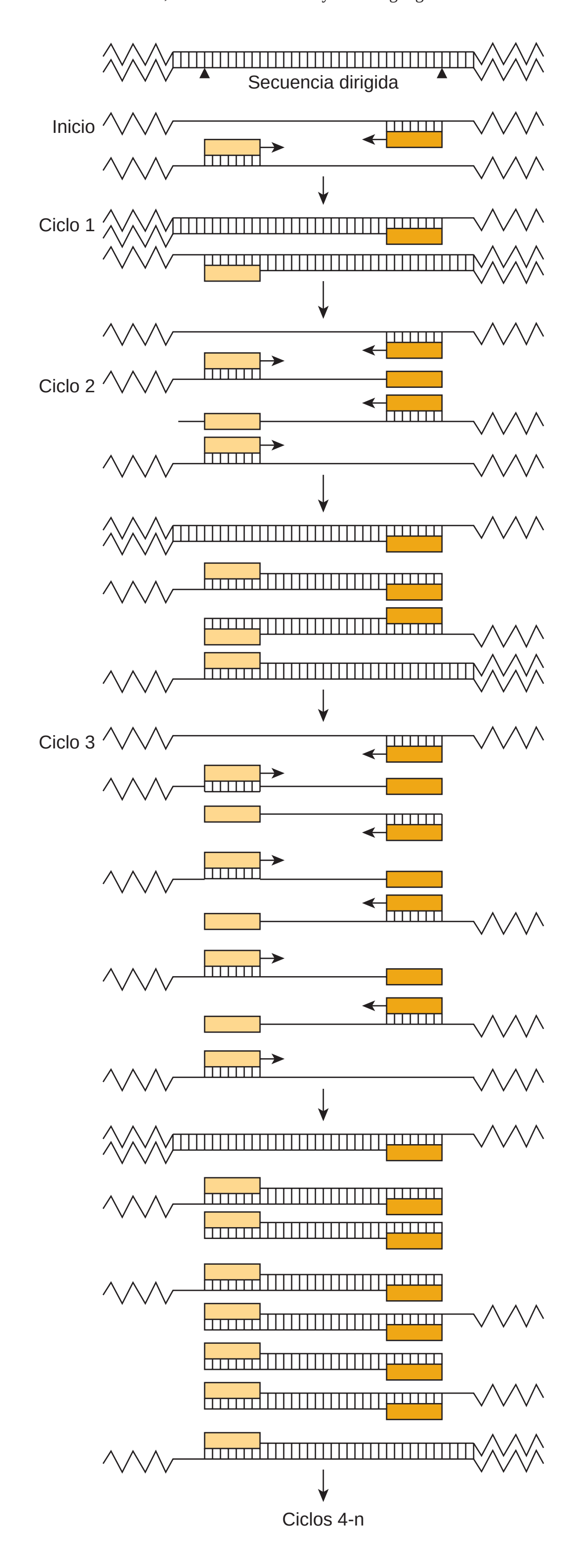


FIGURA 39-6 La reacción en cadena de polimerasa se usa para amplificar secuencias de gen específicas. El DNA bicatenario se calienta para separarlo hacia cadenas individuales, las cuales se unen a dos preparadores distintos que se dirigen a secuencias específicas en cadenas opuestas, y que definen el segmento que va a ser amplificado. La DNA polimerasa extiende los preparadores en cada dirección, y sintetiza dos cadenas complementarias a las dos originales. Este ciclo se repite varias veces, y da un producto amplificado de longitud y secuencia definidas. Note que ambos preparadores están presentes en exceso.

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE TIENE NUMEROSAS APLICACIONES PRÁCTICAS

El aislamiento de un gen que codifica para mRNA específico (alrededor de 1 000 bp) a partir de un genoma entero necesita una técnica

que discriminará una parte en un millón. La identificación de una región reguladora que puede tener sólo 10 bp de longitud requiere una sensibilidad de una parte en 3×10^8; una enfermedad como la anemia de células falciformes se origina por un cambio de base único, o una parte en 3×10^9. La tecnología de DNA es lo bastante potente como para lograr todas estas cosas.

El mapeo de gen localiza genes específicos a distintos cromosomas

De este modo, la localización de gen puede definir un mapa del genoma humano: esto ya está produciendo información útil en la definición de enfermedad de seres humanos. La hibridación de células somáticas y la hibridación *in situ* son dos técnicas que se usan para lograr esto. En la **hibridación *in situ***, el procedimiento más simple y más directo, se añade una sonda radiactiva a una dispersión de cromosomas en metafase sobre una laminilla de vidrio. El área precisa de hibridación se localiza al colocar capas de emulsión fotográfica sobre la laminilla y, después de exposición, alinear los granos con alguna identificación histológica del cromosoma. **La hibridación *in situ* fluorescente (FISH)**, **en la que se utilizan sondas fluorescentes en lugar de sondas marcadas con radiactividad**, es una técnica muy sensible que también se usa para este propósito. Esto suele colocar al gen en una ubicación sobre una banda o región dada en el cromosoma. El cuadro 39-4 lista algunos de los genes de ser humano localizados usando estas técnicas; ahí sólo hay una muestra de genes mapeados, dado que miles de genes se han mapeado como resultado de la reciente secuenciación del genoma humano. Una vez que el defecto se localiza a una región de DNA que tiene la estructura típica de un gen, puede construirse una copia de cDNA sintética del gen, que únicamente contiene exones codificadores de mRNA, y se expresa en un vector apropiado, y es posible evaluar su función —o puede sintetizarse el péptido putativo, deducido a partir de la fase de lectura abierta en la región codificadora—. Anticuerpos dirigidos contra este péptido pueden usarse para evaluar si este péptido se expresa en personas normales, y si está ausente, o alterado en quienes tienen el síndrome genético.

CUADRO 39-4 **Localización de genes de ser humano[1]**

Gen	Cromosoma	Enfermedad
Insulina	11p15	
Prolactina	6p23-q12	
Hormona del crecimiento	17q21-qter	Deficiencia de hormona del crecimiento
Globina α	16p12-pter	Talasemia α
Globina β	11p12	Talasemia β, células falciformes
Adenosina desaminasa	20q13-qter	Deficiencia de adenosina desaminasa
Fenilalanina hidroxilasa	12q24	Fenilcetonuria
Hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa	Xq26-q27	Síndrome de Lesch-Nyhan
Segmento G8 del DNA	4p	Corea de Huntington

[1]Este cuadro indica la localización cromosómica de varios genes, y las enfermedades relacionadas con producción deficiente o anormal de los productos de gen. El primer número o letra indica el cromosoma afectado. Los otros números y letras se refieren a ubicaciones precisas, según se define en McKusick, Victor A., MD, *Mendelian Inheritance in Man: Catalogs of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive, and X-Linked Phenotypes*. Copyright © 1983 Johns Hopkins University Press. Reimpreso con autorización de la Johns Hopkins University Press.

Es posible producir proteínas para investigación y diagnóstico

Un objetivo práctico de la investigación sobre DNA recombinante es la producción de materiales para aplicaciones biomédicas. Esta tecnología tiene dos méritos, pues puede proporcionar: 1) grandes cantidades de material que no podrían obtenerse mediante métodos de purificación convencionales (p. ej., interferón, factor activador tisular del plasminógeno), y 2) material humano (p. ej., insulina, hormona de crecimiento). Las ventajas de ambos casos son obvias. Aun cuando el objetivo primario es proporcionar productos —por lo general proteínas— para tratamiento (insulina) y diagnóstico (pruebas para SIDA) de enfermedades de seres humanos y otros animales, y para prevención de enfermedad (vacuna contra el virus de la hepatitis B), hay otras aplicaciones comerciales potenciales, sobre todo en la agricultura. Un ejemplo de esto último es el intento de procesar plantas con procedimientos de ingeniería para que sean más resistentes a sequía o temperaturas extremas, tengan más eficiencia para la fijación de nitrógeno, o que produzcan semillas (arroz, trigo, maíz, etc.) que contengan la totalidad de los aminoácidos esenciales.

La tecnología de DNA recombinante se usa en el análisis molecular de enfermedad

Variaciones de gen normales

Hay una variación normal de la secuencia de DNA, de la misma manera que es cierto de aspectos más obvios de la estructura del ser humano. Las variaciones de la secuencia de DNA, **polimorfismos**, ocurren aproximadamente una vez cada 500 a 1 000 nucleótidos. Una comparación reciente de la secuencia de nucleótido del genoma de James Watson, el codescubridor de la estructura del DNA, identificó alrededor de 3 300 000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en comparación con el genoma de referencia humano secuenciado inicialmente “estándar”. Despierta interés que más de 80% de los SNP encontrados en el DNA de Watson ya se había identificado en otros individuos. También hay deleciones genómicas e inserciones de DNA (es decir, variaciones del número de copias; **CNV**), así como sustituciones de base única. En personas sanas, estas alteraciones obviamente suceden en regiones no codificadoras del DNA o en sitios que no se traducen en un cambio de la función de la proteína codificada. Este polimorfismo hereditario de la estructura del DNA puede relacionarse con ciertas enfermedades dentro de una familia grande, y puede emplearse para buscar el gen específico afectado, como se ilustra a continuación. También puede usarse en diversas aplicaciones en medicina forense.

Variaciones de gen que dan por resultado enfermedad

La genética clásica enseñaba que casi todas las enfermedades genéticas se debían a mutaciones puntuales que originaban una proteína alterada. Esto todavía puede ser cierto, pero si con la lectura de

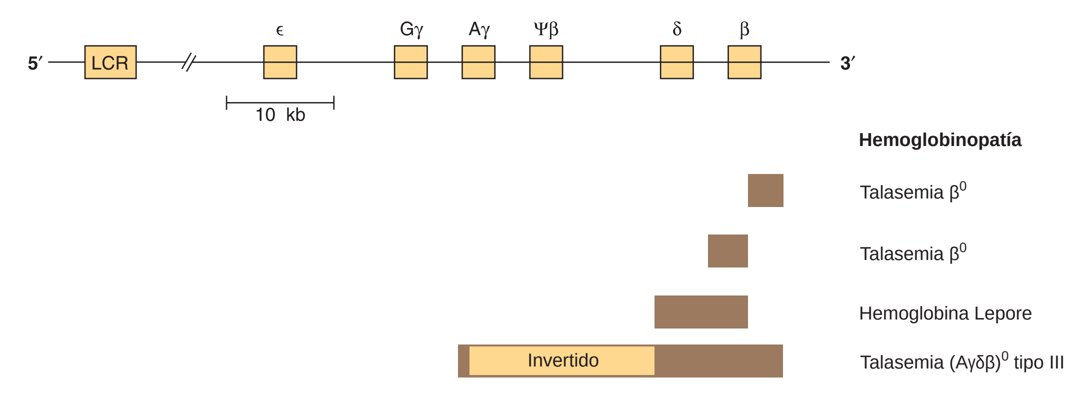


FIGURA 39-7 Representación esquemática de la agrupación de gen que codifica para la globina β, y de lesiones en algunos trastornos genéticos. El gen que codifica para la globina β está localizado en el cromosoma 11 en estrecha asociación con los dos genes que codifican para globina γ y el gen que codifica para globina δ. La familia del gen β está dispuesta en el orden 5'-ε-Gγ-Aγ-Ψβ-δ-β-3'. El locus ε se expresa en la vida embrionaria temprana (como $\alpha_2\varepsilon_2$). Los genes γ se expresan en el transcurso de la vida fetal, y producen hemoglobina fetal (HbF, $\alpha_2\gamma_2$). La hemoglobina de adulto consta de HbA ($\alpha_2\beta_2$) o HbA_2($\alpha_2\delta_2$). El Ψβ es un seudogén que tiene homología de secuencia con β pero que contiene mutaciones que evitan su expresión. Una región de control de locus (LCR), un potente potenciador localizado torrente arriba (5') desde el gen, controla el índice de transcripción de toda la agrupación del gen que codifica para globina β. Las deleciones (barra sólida) del locus β suscitan talasemia β (deficiencia o falta [β^0] de globina β). Una deleción de δ y β produce hemoglobina Lepore (sólo está presente hemoglobina). Una inversión $(A\gamma\delta\beta)^0$ en esta región (barra de mayor tamaño) altera la función de gen, y ocasiona también talasemia (tipo III). Cada tipo de talasemia tiende a encontrarse en un cierto grupo de personas, por ejemplo, la inversión deleción $(A\gamma\delta\beta)^0$ ocurre en personas de India. Se han mapeado muchas más deleciones en esta región, y cada una se traduce en algún tipo de talasemia.

capítulos previos se predijo que la enfermedad genética podía producirse por alteración de cualquiera de los pasos que van desde la replicación, pasando por transcripción, hasta procesamiento/transporte de RNA y síntesis de proteína, se habría hecho una evaluación apropiada. Este punto se ilustra de nuevo muy bien por medio del examen del gen que codifica para la globina β. Este gen está ubicado en una agrupación en el cromosoma 11 (fig. 39-7), y en la figura 39-8 se ilustra una versión expandida del gen. La producción defectuosa de globina β causa diversas enfermedades, y se debe a muchas lesiones diferentes en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo (cuadro 39-5).

Mutaciones puntuales

El ejemplo clásico es la **enfermedad de células falciformes**, que se produce por mutación de una base única de las 3×10^9 en el genoma, una sustitución de T a A en el DNA, que a su vez suscita un cambio de A a U en el mRNA que corresponde al sexto codón del gen que codifica para la globina β. El codón alterado especifica para un aminoácido diferente (valina en lugar de ácido glutámico), y esto produce una anormalidad estructural de la molécula de globina β. Otras mutaciones puntuales en el gen que codifica para la globina β y alrededor del mismo ocasionan menor producción o, en algunos casos, producción nula, de globina β; la talasemia β es el resultado de estas mutaciones. (Las talasemias se caracterizan por defectos de la síntesis de subunidades de hemoglobina y, de este modo, sobreviene talasemia β cuando hay producción insuficiente de globina β.) En la figura 39-8 se ilustra qué mutaciones puntuales que afectan a cada uno de los muchos procesos incluidos en la generación de un mRNA normal (y, por ende, una proteína normal) han quedado implicadas como una causa de talasemia β.

Deleciones, inserciones y reordenamientos de DNA

Estudios de bacterias, virus, levaduras, moscas de la fruta, y ahora seres humanos, muestran que fragmentos de DNA pueden moverse

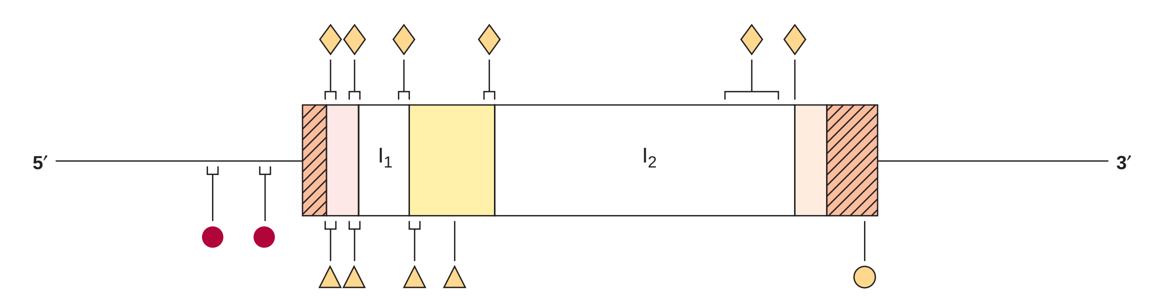


FIGURA 39-8 Mutaciones en el gen que codifica para globina β que dan por resultado talasemia β. El gen que codifica para la globina β se muestra en la orientación-5' a 3'. Las áreas con trama indican las regiones 5' y 3' no traducidas. Leyendo desde la dirección 5' hacia la 3', las áreas sombreadas son los exones 1 a 3, y los espacios claros son los intrones 1 (I_1) y 2 (I_2). Las mutaciones que afectan el control de la transcripción ( ) están localizadas en el DNA de la región 5' flanqueante. Se han identificado ejemplos de mutaciones sin sentido ( ), mutaciones en el procesamiento del RNA ( ), y las mutaciones de división de RNA ( ), y se indican. En algunas regiones se han hallado muchas mutaciones distintas. Éstas se indican por medio de los corchetes.

CUADRO 39-5 Alteraciones estructurales del gen que codifica para globina β

Alteración	Función afectada	Enfermedad
Mutaciones puntuales	Plegado de proteína	Enfermedad de células falciformes
	Control transcripcional	Talasemia β
	Mutaciones por cambio de cuadro o sin sentido	Talasemia β
	Procesamiento de RNA	Talasemia β
Deleción	Producción de mRNA	Talasemia β^0
		Hemoglobina Lepore
Reordenamiento	Producción de mRNA	Talasemia β tipo III

de un lugar a otro dentro de un genoma. La deleción de un fragmento de DNA crucial, el reordenamiento de DNA dentro de un gen, o la inserción o amplificación de un fragmento de DNA dentro de una región codificadora o reguladora, pueden causar cambios de la expresión génica que dan por resultado enfermedad. De nuevo, un análisis molecular de las talasemias produce muchos ejemplos de estos procesos —en especial deleciones— como causas de enfermedad (fig. 39-7). Las agrupaciones del gen que codifica para globina parecen tener propensión particular a esta lesión. Las deleciones en la agrupación de globina α, localizada en el cromosoma 16, suscitan talasemia α. Hay una fuerte asociación étnica para muchas de estas deleciones, de manera que los habitantes del norte de Europa, los filipinos, los sujetos de raza negra, y los pueblos del Mediterráneo tienen diferentes lesiones que producen falta de hemoglobina A y talasemia α.

Podría hacerse un análisis similar para varias otras enfermedades. Las mutaciones puntuales por lo general se definen mediante secuenciación del gen en cuestión, aunque en ocasiones, si la mutación destruye o crea un sitio de enzima de restricción, la técnica de análisis de fragmento de restricción puede emplearse para identificar con exactitud la lesión. Las deleciones o inserciones de DNA de más de 50 bp a menudo se pueden detectar por medio del procedimiento de electrotransferencia Southern, de PCR o ambos.

Análisis de ascendencia

La enfermedad de células falciformes proporciona una vez más un excelente ejemplo de cómo la tecnología de DNA recombinante puede aplicarse al estudio de la enfermedad en seres humanos. La sustitución de T por A en la cadena plantilla de DNA en el gen que codifica para la globina β cambia la secuencia en la región que corresponde al sexto codón desde:

CCTGAGG Cadena codificadora
GGACTCC Cadena plantilla

hacia

CCTGTGG Cadena codificadora
GG↓ACACC↑C Cadena plantilla

y destruye un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción *MstII* (CCTNAGG; denotada por las flechas verticales pequeñas; cuadro 39-1). Otros sitios de *MstII* 5′ y 3′ desde este sitio (fig. 39-9) no quedan afectados y, así, se cortarán. Por consiguiente, la incubación de DNA de sujetos normales (AA), heterocigotos (AS) y homocigotos (SS) ocasiona tres modelos diferentes en la electrotransferencia Southern (fig. 39-9). Esto ilustra de qué modo puede establecerse la ascendencia de DNA usando los principios que se comentan en este capítulo. El análisis de la ascendencia se ha aplicado a diversas enfermedades genéticas, y es más útil en las que se producen por deleciones e inserciones o los más raros casos en los cuales hay afección de un sitio de corte de endonucleasa de restricción, como en el ejemplo aquí citado. Esos estudios ahora se facilitan gracias a la reacción de PCR, que amplifica y, por tanto, proporciona suficiente DNA para análisis a partir de sólo algunas células nucleadas.

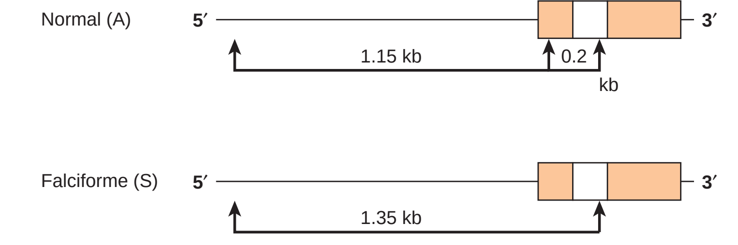
Diagnóstico prenatal

Si se entiende la lesión genética, y se dispone de una sonda específica, es posible el diagnóstico prenatal. El DNA de células recolectadas a partir de una cantidad tan pequeña como 10 ml de líquido amniótico (o por medio de biopsia de vellosidades coriónicas) puede analizarse mediante electrotransferencia Southern. Un feto con el modelo de restricción AA en la figura 39-9 no tiene enfermedad de células falciformes ni es un portador. Un feto con el modelo SS presentará la enfermedad. Ahora se dispone de sondas para este tipo de análisis de muchas enfermedades genéticas.

Polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) y polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)

Las diferencias en la secuencia de DNA antes citadas pueden dar por resultado variaciones de los sitios de restricción y, de esta manera, de la longitud de los fragmentos de restricción. De modo similar, los polimorfismos de nucleótido único, o **SNP**, pueden detectarse por medio del método de PCR sensible. Una diferencia hereditaria del modelo de digestión de enzima de restricción (p. ej., una variación del DNA que ocurre en más de 1% de la población general) se conoce como un polimorfismo de longitud de fragmento de restricción, o RFLP. Se han construido mapas extensos de RFLP y SNP del genoma humano. Esto ha resultado útil en el *Human Genome Analysis Project*, y es un componente de importancia del esfuerzo para entender diversas enfermedades monogénicas y multigénicas. Los RFLP se producen por cambios de base única (p. ej., enfermedad de células falciformes), o por deleciones o inserciones (CNV) de DNA hacia un fragmento de restricción (p. ej., las talasemias) y han resultado ser instrumentos diagnósticos útiles. Se han hallado en *loci* de gen conocidos y en secuencias que no tienen función conocida; de esta manera, los RFLP pueden alterar la función del gen, o pueden no tener consecuencias biológicas manifiestas. Como se mencionó, 80% de los SNP en el genoma de un individuo conocido único ya se habían mapeado de modo independiente mediante los esfuerzos del componente de mapeo de SNP del *International HapMap Project*.

Los RFLP y SNP son hereditarios, y se segregan de manera mendeliana. Un uso importante de SNP/RFLP estriba en la definición de enfermedades hereditarias en las cuales se desconoce el déficit funcional. Los SNP/RFLP pueden usarse para establecer grupos de enlace que, a su vez, por medio del proceso de **caminata cromo-**



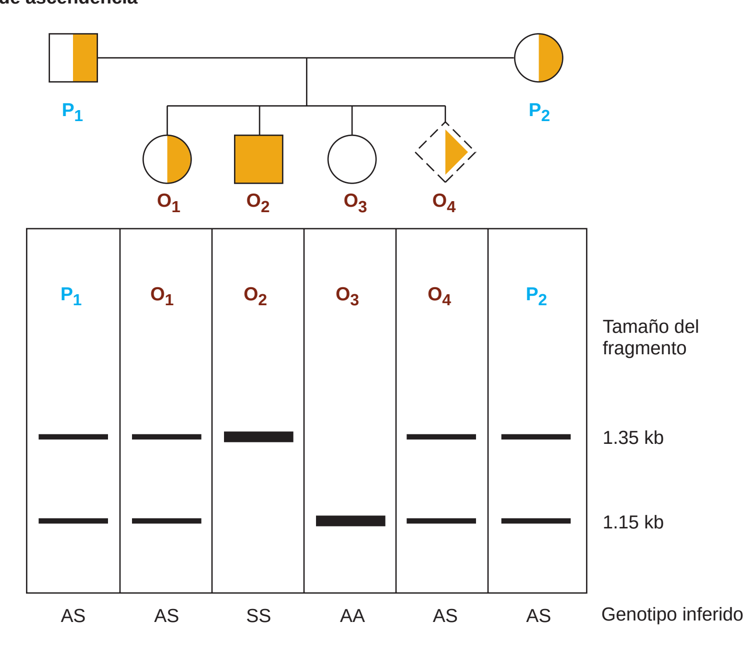


FIGURA 39-9 Análisis de la ascendencia de la enfermedad de células falciformes. La parte superior de la figura **(A)** muestra la primera parte del gen que codifica para globina β, y los sitios de enzima de restricción *MstII* en los genes que codifican para globina β normal (A) y de células falciformes (S). La digestión con la enzima de restricción *MstII* origina fragmentos de DNA de 1.15 kb y 0.2 kb de largo en sujetos normales. El cambio de T a A en personas con enfermedad de células falciformes suprime uno de los tres sitios *MstII* alrededor del gen que codifica para globina β; en consecuencia, se genera un fragmento de restricción único de 1.35 kb de largo en respuesta a *MstII*. Esta diferencia de tamaño se detecta con facilidad en una electrotransferencia Southern. (El fragmento de 0.2 kb correría fuera del gel en esta ilustración.) **(B)** El análisis de árbol genealógico muestra tres posibilidades: AA = normal (círculo blanco); AS = heterocigoto (círculos con una mitad a color, cuadrado con una mitad a color); SS = homocigoto (cuadrado a color). Este método puede permitir el diagnóstico prenatal de enfermedad de células falciformes (cuadrado punteado ladeado). Véase el texto.

sómica, finalmente definirán el locus de la enfermedad. En la caminata cromosómica (fig. 39-10), un fragmento que representa un extremo de un pedazo largo de DNA se usa para aislar otro que se superpone pero que extiende el primero. La dirección de la extensión se determina mediante mapeo de restricción, y el procedimiento se repite de modo secuencial en tanto no se obtiene la secuencia deseada. Se dispone en el comercio de colecciones de DNA genómicos del ser humano, BAC- o PAC-clonados mapeados, que se superponen. Los trastornos enlazados con el cromosoma X se prestan en especial al método de caminata cromosómica, porque sólo se expresa un alelo único. En consecuencia, 20% de los RFLP definidos está en el cromosoma X, y existe un mapa de enlace razonablemente completo de este cromosoma. El gen que codifica para el trastorno ligado a X, distrofia muscular tipo Duchenne, se encontró usando RFLP. De manera similar, el defecto en la enfermedad de Huntington se localizó en la región terminal del brazo corto del cromosoma 4, y el defecto que da por resultado enfermedad renal poliquística está ligado al locus de la globina α en el cromosoma 16.

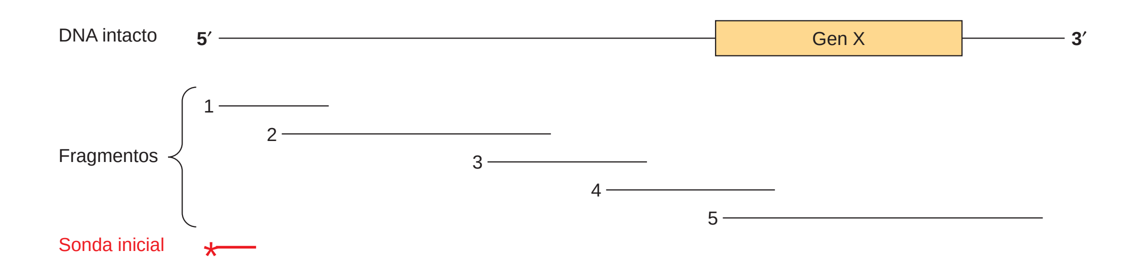


FIGURA 39-10 La técnica de caminata cromosómica. El gen X es aislado desde un fragmento grande de DNA. Se desconoce la ubicación precisa de este gen, pero se dispone de una sonda (*——) dirigida contra un fragmento de DNA (que se muestra en el extremo 5' en esta representación), al igual que de una biblioteca de clonas que contiene una serie de fragmentos de inserto de DNA que se superponen. En aras de la sencillez, sólo se muestran cinco de ellos. La sonda inicial sólo se hibridará con clonas que contienen el fragmento 1, que entonces se puede aislar y usar como una sonda para detectar el fragmento 2. Este procedimiento se repite hasta que el fragmento 4 se hibrida con el fragmento 5, que contiene la secuencia completa del gen X.

Polimorfismos de DNA microsatélite

Unidades de DNA con repetición en tándem, hereditarias, cortas (2 a 6 bp) suceden aproximadamente 50 000 a 100 000 veces en el genoma humano (cap. 35). Puesto que ocurren con mayor frecuencia —y en vista de la aplicación sistemática de métodos de PCR sensibles—, han comenzado a remplazar a los RFLP como los *loci* marcadores para diversas búsquedas en el genoma.

RFLP y VNTR en medicina forense

Los números variables de unidades repetidas en tándem (VNTR) son un tipo frecuente de "inserción" que origina un RFLP. Los VNTR pueden ser hereditarios, en cuyo caso son útiles para establecer asociación genética con una enfermedad en una familia o un clan, o pueden ser singulares para un individuo y, así, servir como una huella digital molecular de esa persona.

Secuenciación directa de DNA genómico

Como se mencionó, avances recientes en la tecnología de secuenciación de DNA, las denominadas plataformas de secuenciación de próxima generación (NGS), han reducido de modo notorio el costo de secuenciación de DNA por cada base. La secuencia inicial del genoma humano costó alrededor de $ 350 000 000 (EUA); se estima que el costo de secuenciar el mismo genoma humano diploide de 3 $\times 10^9$ bp usando las nuevas plataformas de NGS es de < 1% del original. Esta notoria disminución del costo ha estimulado diversas iniciativas internacionales para secuenciar los genomas enteros de miles de individuos de diversos trasfondos raciales y étnicos con el objeto de determinar la magnitud verdadera de polimorfismos de DNA/genoma presentes dentro de la población. La abundante información genética resultante y el costo siempre decreciente de la secuenciación de DNA genómico incrementarán de manera notoria la capacidad para diagnosticar y, finalmente, tratar, enfermedad en seres humanos. Es obvio que cuando la secuenciación de genoma personal se haga común, el resultado serán cambios drásticos del ejercicio de la medicina.

Terapia génica y biología de células madre

Las enfermedades causadas por deficiencia de un producto de gen único (cuadro 39-4) se prestan en teoría a terapia de remplazo. La estrategia es clonar un gen (p. ej., el gen que codifica para la adenosina desaminasa) hacia un vector que será captado e incorporado con facilidad hacia el genoma de una célula huésped. Células precursoras de la médula ósea están bajo investigación con este propósito, porque probablemente se volverán a asentar en la médula y se replicarán ahí. El gen introducido empezaría a dirigir la expresión de su producto proteínico, lo cual corregiría la deficiencia en la célula huésped.

Como una alternativa para "remplazar" genes defectuosos para curar enfermedad en seres humanos, muchos científicos están investigando la viabilidad de identificar y caracterizar células madre pluripotenciales, que tienen la capacidad para diferenciarse hacia cualquier tipo de célula en el cuerpo. Resultados recientes en este campo han mostrado que las células somáticas de ser humano adulto pueden convertirse con facilidad en células madre pluripotenciales evidentes por medio de transfección con cDNA que codifican para un puñado de factores de transcripción de unión a DNA. Estos avances y otros nuevos en los campos de la terapia génica y la biología de células madre prometen interesantes y nuevas terapias potenciales para curar enfermedades de seres humanos.

Animales transgénicos

La terapia de remplazo de gen de células somáticas antes descrita obviamente no se transmitiría hacia la descendencia. Se han ideado otras estrategias para alterar líneas de células germinales, pero sólo se han probado en animales de experimentación. Un cierto porcentaje de genes inyectados hacia un óvulo fecundado de ratón se incorporará hacia el genoma y se hallará en células tanto somáticas como germinales. Se han establecido cientos de animales transgénicos, y éstos son útiles para análisis de efectos específicos para tejido sobre la expresión de gen, y efectos de producción excesiva de productos de gen (p. ej., los del gen que codifica para hormona de crecimiento u oncogenes) y en el descubrimiento de genes involucrados en el desarrollo, proceso que hasta ahora ha sido difícil de estudiar. El método transgénico se ha usado para corregir una deficiencia genética en ratones. Óvulos fecundados obtenidos a partir de ratones con hipogonadismo genético se inyectaron con DNA que contenía la secuencia codificadora para la proteína precursora de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Este gen se expresó y reguló normalmente en el hipotálamo de un cierto número de los ratones resultantes, y estos animales fueron normales en todos los aspectos. Su descendencia tampoco mostró datos de deficiencia de GnRH. Por ende, ésta es evidencia de expresión del transgén en células somáticas, y de su mantenimiento en células germinales.

Alteración o noqueo (*knockout*) de gen dirigido

En animales transgénicos, se están añadiendo una o más copias de un gen al genoma, y es imposible controlar dónde finalmente reside ese gen. Un método complementario —y mucho más difícil— comprende la eliminación selectiva de un gen del genoma. Los animales con noqueo de gen (por lo general ratones) se hacen al crear una mutación que altera por completo la función de un gen. Esto a continuación se usa para remplazar uno de los dos genes en una célula madre embrionaria que puede emplearse para crear un animal transgénico heterocigoto. El apareamiento de dos animales de ese tipo causará, por genética mendeliana, una mutación homocigota en 25% de la descendencia. Se han creado varios miles de cepas de ratones con noqueo de genes específicos. De la misma manera técnicas para alterar genes en células, tejidos u órganos específicos, llamadas noqueos condicionales, o dirigidos. Esto puede lograrse al aprovechar combinaciones particulares de promotor-potenciador que impulsan la expresión de DNA recombinasas o miRNA, ambas de las cuales desactivan la expresión de gen. Estos métodos son en especial útiles en casos en los cuales la ablación de gen en el desarrollo temprano suscita letalidad embrionaria.

Establecimiento de perfil de RNA y proteína, y mapeo de interacción proteína-DNA

La revolución "-ómica" del último decenio ha culminado en la determinación de las secuencias de nucleótido de genomas enteros, incluso las de levaduras gemantes y de fisión, muchas bacterias, la mosca de la fruta, el gusano *Caenorhabditis elegans*, vegetales, el

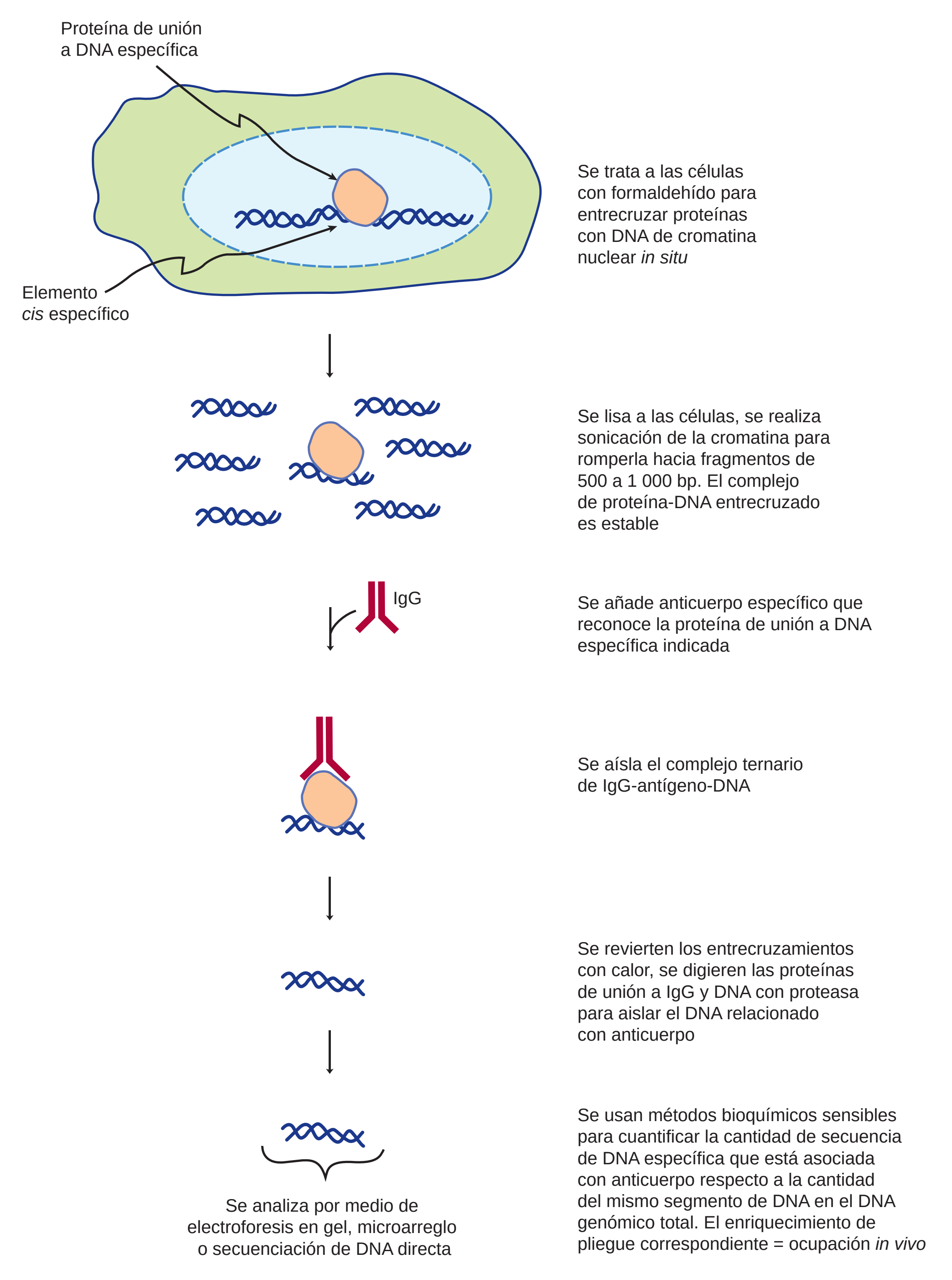


FIGURA 39-11 Esbozo de la técnica de inmunoprecipitación de cromatina (ChIP). Este método permite la localización exacta de una proteína particular (o proteína modificada si se dispone de un anticuerpo apropiado; p. ej., histonas fosforiladas o acetiladas, factores de transcripción, etc.) en un elemento de secuencia particular en células vivas. Según el método usado para analizar el DNA inmunopurificado, puede obtenerse información cuantitativa o semicuantitativa, a resolución casi en el ámbito de nucleótido.

ratón, rata, pollo, mono y, de forma más notable, seres humanos. Se están secuenciando genomas adicionales a un ritmo en aceleración. La disponibilidad de toda esta información sobre secuencia de DNA, junto con los avances de ingeniería, ha llevado a la creación de varias metodologías revolucionarias, la mayor parte de las cuales se basa en **tecnología de microarreglo de alta densidad** o **plataformas de secuenciación de siguiente generación NGS**. En el caso de microarreglos, ahora es posible depositar miles de secuencias de DNA definibles, conocidas, específicas (más típicamente ahora oligonucleótidos sintéticos) en una laminilla de vidrio estilo microscopio en el espacio de algunos centímetros cuadrados. Al acoplar esos microarreglos de DNA con detección muy sensible de sondas de ácido nucleico marcadas con fluorescencia, hibridadas, derivadas de mRNA, los investigadores pueden generar con rapidez y precisión perfiles de expresión de gen (p. ej., contenido de mRNA celular específico) a partir de muestras de células y de tejidos de tamaño tan pequeño como 1 g o menos. De este modo, en sólo algunos días puede obtenerse con facilidad **información de transcriptoma** completa (la colección completa de mRNA celulares) para esas fuentes célula o tejido. En el caso de secuenciación de NGS, los mRNA se convierten en cDNA usando transcripción inversa, y estos cDNA se secuencian de manera directa. Ambos métodos permiten la descripción de todo el transcriptoma. La información de transcriptoma permite predecir la colección de proteínas que podría expresarse en una célula, tejido u órgano particular en estados normales y de enfermedad con base en los mRNA presentes en esas células. Complementa a este método de establecimiento de perfil de transcripción, de alta capacidad de procesamiento, el desarrollo reciente de métodos para mapear la ubicación, o la ocupación de proteínas específicas unidas a sitios separados dentro de células vivas. Este método se denomina inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) (fig. 39-11). Se entrecruzan proteínas *in situ* en células o tejidos, la cromatina se aísla, se rompe, y complejos de proteína-DNA específicos se purifican usando anticuerpos que reconocen una proteína particular, o isoforma de proteína. El DNA unido a esta proteína se recupera y analiza usando PCR y electroforesis en gel, secuenciación directa (ChIP-SEQ) o análisis de microarreglo (ChIP-chip). Los métodos tanto de ChIP-SEQ como de ChIP-chip permiten a los investigadores identificar las ubicaciones en el ámbito de genoma entero de una proteína única en todos los cromosomas. Finalmente, se han creado métodos para **espectrometría de masa de metabolitos (metabolómica) y muestras de proteína complejas (proteómica)** de sensibilidad alta, de elevada capacidad de procesamiento. Los métodos de espectrometría de masa más nuevos permiten identificar cientos a miles de proteínas en muestras extraídas a partir de números muy pequeños de células (< 1 g). Esos análisis ahora pueden usarse para cuantificar las cantidades de proteínas en dos muestras. Esta información crucial dice a los investigadores cuáles de los muchos mRNA

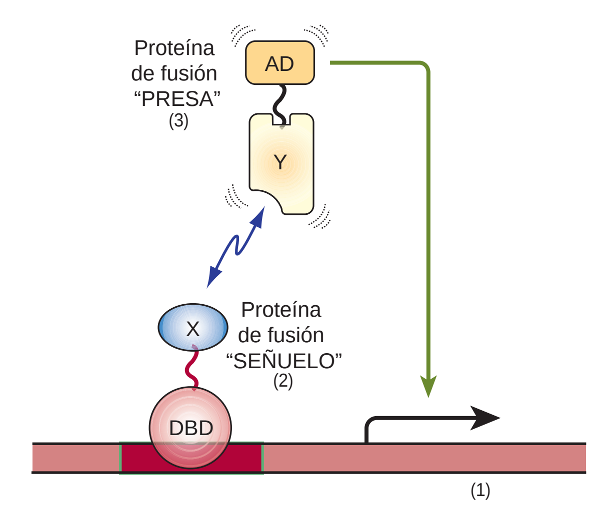


FIGURA 39-12 Perspectiva general de sistema doble híbrido para identificar y caracterizar interacciones entre una proteína y otra. Se muestran los componentes y la operación básicos del sistema doble híbrido, originalmente ideado por Fields y Song (*Nature* 340:245–246 [1989]) para funcionar en el sistema de levadura para hornear. **(1)** Un gen reportero, sea un marcador seleccionable (esto es, un gen que confiere crecimiento prototípico en medios selectivos, o que produce una enzima para la cual existe una valoración colorimétrica de colonia, como β-galactosidasa) que sólo se expresa cuando un factor de transcripción se une corriente arriba a un potenciador enlazado a *cis* (barra de color rojo oscuro). **(2)** Una proteína de fusión "señuelo" **(DBD-X)** producida a partir de un gen quimérico que expresa un dominio de unión a DNA (**DBD;** que suele derivarse de la proteína Gal 4 de levadura o la proteína Lex A bacteriana, ambas proteínas de unión a DNA con afinidad alta y especificidad alta) modular fusionado en cuadro a una proteína de interés, aquí X. En experimentos doble híbrido, se está probando si alguna proteína puede interactuar con la proteína X. La proteína X presa puede fusionarse en su totalidad o a menudo de manera alternativa sólo una parte de la proteína X se expresa en cuadro con el DBD. **(3)** Una proteína "presa" **(Y-AD)**, que representa una fusión de una proteína específica fusionada en cuadro con un dominio de activación transcripcional (**AD;** que suele derivarse de la proteína VP16 del virus del herpes simple o la proteína Gal 4 de levadura). Este sistema sirve como una prueba útil de interacciones entre una proteína y otra entre las proteínas X y Y porque en ausencia de una unión de transactivador funcional al potenciador indicado, no sucede transcripción del gen reportero (véase la fig. 38-16). Así, sólo se observa transcripción si ocurre interacción entre las proteínas X y Y, lo que da un AD funcional para la unidad de transcripción enlazada a *cis*, en este caso, activando la transcripción del gen reportero. En este escenario, la proteína DBD-X sola no activa la transcripción del reportero porque el dominio X fusionado al DBD no contiene un AD. De manera similar, la proteína Y-AD sola no activa la transcripción de gen reportero porque carece de un DBD para dirigir la proteína Y-AD hacia el potenciador. Sólo cuando ambas proteínas se expresan en una sola célula y se unen al potenciador y, mediante interacciones entre una proteína y otra DBD-X-Y-AD, regeneran una "proteína" binaria transactivadora funcional, la transcripción del gen reportero suscita activación de la síntesis de mRNA (línea desde AD hacia el gen reportero).

detectados en estudios de mapeo de microarreglos de transcriptoma en realidad se traducen hacia proteína, regularmente el dictador final del fenotipo. También se han estado ideando nuevos medios genéticos para identificar interacciones entre una proteína y otra y función de proteína. El noqueo *(knock-down)* sistemático de la expresión de gen en el ámbito de genoma, usando SiRNA (miRNA), o investigaciones de interacción genética letal sintética, se ha aplicado para evaluar la contribución de genes individuales a diversos procesos en sistemas modelo (levadura, gusanos, moscas) y células de mamífero (de ser humano y de ratón). Mapeos de red específicos de interacciones entre una proteína y otra en el ámbito de todo el genoma se han identificado usando variantes de alta capacidad de procesamiento de la prueba de interacción de doble híbrido (fig. 39-12). Este método sencillo pero potente puede llevarse a cabo en bacterias, levaduras, o células de metazoario, y permite detectar interacciones específicas entre una proteína y otra en células vivas. Experimentos de reconstrucción indican que con este método se pueden detectar fácilmente las interacciones entre una proteína y otra con afinidades de K_d ~1 μM o más estrechas. Juntas, estas tecnologías proporcionan nuevos y potentes recursos con los cuales disecar los pormenores de las propiedades biológicas del ser humano.

Técnicas de microarreglo, secuenciación de DNA de alta capacidad de procesamiento, deleción genética de doble híbrido, y experimentos de identificación de proteína y metabolito espectrométricos, han llevado a la generación de enormes cantidades de datos. El manejo apropiado de datos y la interpretación del aluvión de información que se anticipa a partir de esos estudios se han fundamentado en métodos estadísticos, y esta nueva tecnología, junto con el torrente de información sobre la secuencia del DNA, han llevado a la creación de los campos de la **bioinformática y la biología de sistemas**, nuevas disciplinas cuyos objetivos son ayudar a manejar, analizar e integrar esta avalancha de información importante en el aspecto biológico. La investigación futura en la intersección de la bioinformática, el establecimiento de perfiles de transcripción-proteína, y biología de sistemas, revolucionará la comprensión de la fisiología y la medicina.

RESUMEN

- En la actualidad, diversas técnicas muy sensibles pueden aplicarse al aislamiento y la caracterización de genes, y a la cuanti cación de productos de gen.
- En la clonación de DNA, un segmento particular de DNA se elimina de su ambiente normal usando PCR o una de muchas endonucleasas de restricción. Esto a continuación se liga hacia un vector en el cual el segmento de DNA se puede ampli car y producir en abundancia.
- El DNA clonado puede emplearse como una sonda en uno de varios tipos de reacciones de hibridación para detectar otros pedazos de DNA relacionados o adyacentes, o puede usarse para cuanti car productos de gen, como mRNA.
- La manipulación del DNA para cambiar su estructura, la denominada ingeniería genética, es un elemento clave en la clonación (p. ej., la construcción de moléculas quiméricas), y puede emplearse también para estudiar la función de un cierto fragmento de DNA, y para analizar cómo se regulan los genes.
- Moléculas de DNA quiméricas se introducen en células para hacerlas objeto de transfección, o hacia el oocito fecundado para formar animales transgénicos.
- Las técnicas que incluyen DNA clonado se usan para localizar genes a regiones especí cas de cromosomas, identi car los genes de los cuales dependen enfermedades, estudiar de qué modo la regulación fallida de gen produce enfermedad, diagnosticar enfermedades genéticas, y cada vez más para tratarlas.

REFERENCIAS

Brass Al et al: Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. Science 2008;319:921.

Friedman A, Perrimon N: Genome-wide high-throughput screens in functional genomics. Curr Opin Gen Dev 2004;14:470.

Gandhi TKB et al: Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast, worm and fly interaction datasets. Nat Genet 2006;38:285.

Martin JB, Gusella JF: Huntington´s disease: pathogenesis and management. N Engl J Med 1986:315:1267.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

Schlabach MR et al: Cancer proliferation gene discovery through functional genomics. Science 2008;319:620.

Suter B, Kittanakom S, Stagljar I: Interactive proteomics: what lies ahead? Biotechniques 2008;44:681.

Spector DL, Goldman RD, Leinwand LA: *Cells: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998.

Takahashi K et al: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 2007;131:861.

The ENCODE Project Consortium: Identification and analysis of functional in 1% of the human genome by the ENCODE Pilot Project. Nature 2007;447:799.

Watson JD et al: *Recombinant DNA,* 2nd ed. Scientific American Books. Freeman, 1992.

Weatherall DJ: *The New Genetics and Clinical Practice,* 3rd ed. Oxford Univ Press, 1991.

Werning M et al: In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature 2007;448:318.

Wheeler DA et al: The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. Nature 2008;451:872.

Wold B, Myers RM: Sequence census methods for functional genomics. Nat Meth 2008;5:19.

GLOSARIO

ARS: secuencia replicante de manera autónoma; el origen de la replicación en levaduras.

Autorradiografía: la detección de moléculas radiactivas (p. ej., DNA, RNA, proteína) mediante visualización de sus efectos sobre película fotográfica o de rayos X.

Bacteriófago: un virus que infecta a una bacteria.

Biblioteca: colección de fragmentos clonados que representa, en conjunto, todo el genoma. Las bibliotecas pueden ser DNA genómico (en el cual están representados tanto los intrones como los exones) o cDNA (en el cual sólo están representados los exones).

cDNA: una molécula de DNA monocatenario que es complementaria a una molécula de mRNA, y se sintetiza a partir de la misma por medio de la acción de transcriptasa inversa.

Clona: un gran número de organismos, células o moléculas que son idénticas con un organismo, célula o molécula progenitor único.

Código epigenético: los modelos de modificación de DNA cromosómico (esto es, metilación de citosina) y modificaciones

postraduccionales de histona nucleosómica. Estos cambios del estado de modificación pueden llevar a alteraciones notorias de la expresión de gen. Aun así, es notable que la secuencia de DNA subyacente real involucrada no cambia.

Cósmido: un plásmido hacia el cual se han insertado las secuencias de DNA del bacteriófago lambda que son necesarias para la aglomeración de DNA (sitios cos); esto permite que el DNA del plásmido se aglomere *in vitro*.

DNA con extremo pegajoso: cadenas únicas complementarias de DNA que sobresalen desde extremos opuestos de un DNA dúplex o forman los extremos de diferentes moléculas dúplex (véase también DNA con extremo romo, antes).

DNA con extremo romo: dos cadenas de un DNA dúplex que tienen extremos que están alineados entre sí.

DNA recombinante: el DNA alterado que se produce por la inserción de una secuencia de desoxinucleótidos no previamente presente, hacia una molécula de DNA existente, por medios enzimáticos o químicos.

Electrotransferencia Northern: un método para transferir RNA desde un gel de agarosa o de poliacrilamida hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual el RNA puede detectarse mediante una sonda idónea.

Electrotransferencia Southern: método para transferir DNA desde un gel de agarosa hacia filtro de nitrocelulosa, en el cual el DNA se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., DNA o RNA complementario).

Electrotransferencia Southwestern: método para detectar interacciones entre proteína y DNA al aplicar una sonda de DNA marcada a una membrana de transferencia que contiene una proteína renaturalizada.

Electrotransferencia Western: método para transferir proteína hacia un filtro de nitrocelulosa, en el cual la proteína se puede detectar mediante una sonda idónea (p. ej., un anticuerpo).

Empalme: la eliminación de intrones del RNA, acompañada por la unión de sus exones.

Empalmeosoma: el complejo macromolecular que se encarga del empalme de mRNA precursor. El empalmeosoma consta de al menos 5 RNA nucleares pequeños (snRNA; U1, U2, U4, U5 y U6) y muchas proteínas.

ENCODE Project: *Encyclopedia of DNA Elements Project*; un esfuerzo de múltiples laboratorios de todo el mundo para proporcionar una representación detallada, informativa desde el punto de vista bioquímico, del genoma humano usando métodos de secuenciación de alta capacidad de procesamiento para identificar y catalogar los elementos funcionales dentro de una parte restringida única (~ 1%; 30 000 000 bp) de un cromosoma de ser humano.

Endonucleasa: una enzima que divide enlaces internos en el DNA o el RNA.

Enzima de restricción: una endodesoxinucleasa que ocasiona división de ambas cadenas de DNA en sitios muy específicos dictados por la secuencia de bases.

Escinucleasa: la nucleasa de escisión comprendida en la reparación de DNA por intercambio de nucleótido.

Establecimiento de huella digital: el uso de RFLP o de DNA de secuencia de repetición para establecer un modelo único de fragmentos de DNA para un individuo.

Establecimiento de huella digital del pie: el DNA con proteína unida es resistente a digestión por enzimas DNasa. Cuando se realiza una reacción de secuenciación usando ese DNA, se detectará un área protegida, que representa la “huella digital del pie” de la proteína unida, porque las nucleasas son incapaces de dividir el DNA directamente unido por la proteína.

Exón: la secuencia de un gen que se representa (expresa) como mRNA.

Exonucleasa: enzima que divide nucleótidos desde los extremos 3′ o 5′ del DNA o RNA.

FISH: hibridación *in situ* fluorescente, método que se usa para mapear la ubicación de secuencias de DNA específicas dentro de núcleos fijos.

Hibridación: la reasociación específica de cadenas complementarias de ácidos nucleicos (DNA con DNA, DNA con RNA, o RNA con RNA).

Horquilla: un tramo de doble hélice constituido por formación de pares de bases entre secuencias complementarias vecinas de una cadena única de DNA o RNA.

Inserto: un tramo adicional de pares de bases en el DNA, por lo general introducido mediante las técnicas de tecnología de DNA recombinante.

Intrón: la secuencia de un gen que codifica para mRNA que se transcribe pero que se escinde antes de la traducción. Los genes que codifican para tRNA también pueden contener intrones.

Ligadura: la unión catalizada por enzima en enlace fosfodiéster de dos tramos de DNA o RNA hacia uno; las enzimas respectivas son DNA y RNA ligasas.

Líneas: secuencias repetidas entremezcladas largas.

miRNA: microRNA, especies de RNA de 21 a 22 nucleótidos de largo derivadas a partir de unidades de transcripción de RNA polimerasa II, de 500 a 1 500 bp de longitud por medio de procesamiento de RNA. Se cree que estos RNA, recién descubiertos, desempeñan funciones cruciales en la regulación de gen.

Molécula quimérica: una molécula (p. ej., DNA, RNA, proteína) que contiene secuencias derivadas de dos especies diferentes.

Oligonucleótido: una secuencia corta y definida de nucleótidos unidos entre sí en el enlace fosfodiéster típico.

Ori: el origen de replicación de DNA.

PAC: un vector de clonación de alta capacidad (70 a 95 kb) basado en el bacteriófago P1 de *E. coli* lítico que se replica en bacterias como un elemento extracromosómico.

Palíndromo: secuencia de DNA dúplex que es la misma cuando las dos cadenas se leen en direcciones opuestas.

Plásmido: pequeña molécula circular, extracromosómica, de DNA, que se replica de modo independiente del DNA huésped.

Polimorfismo microsatélite: heterocigosidad de una cierta repetición microsatélite en un individuo.

Primosoma: el complejo móvil de helicasa y primasa que está involucrado en la replicación del DNA.

Proteosoma: la colección completa de proteínas expresadas en un organismo.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR): método enzimático para el copiado repetido (y, de esta manera, la amplificación) de las dos cadenas de DNA que constituyen una secuencia de gen particular.

RT-PCR: método usado para cuantificar las concentraciones de mRNA, que se fundamenta en un primer paso de copia de cDNA de mRNA catalizado por la transcriptasa inversa antes de amplificación con PCR y cuantificación.

Secuencias de repetición microsatélite: secuencias de repetición dispersas o en grupo, de 2 a 5 bp repetidas hasta 50 veces. Pueden suceder en 50 000 a 100 000 ubicaciones en el genoma.

Señal: el producto terminal observado cuando una secuencia específica de DNA o RNA se detecta mediante autorradiografía o algún otro método. Generalmente se usa hibridación con un polinucleótido radiactivo complementario (p. ej., por medio de electrotransferencia Southern o Northern) para generar la señal.

Seudogén: un segmento de DNA inactivo que surge por mutación de un gen activo progenitor; típicamente se genera por transposición de una copia de cDNA de un mRNA.

Sines: secuencias de repetición entremezcladas cortas.

SiRNA: RNA silenciadores, de 21 a 25 nt de longitud, generados por degradación nucleolítica selectiva de RNA bicatenarios de origen celular o viral. Los siRNA se renaturalizan a diversos sitios específicos dentro del blanco en RNA que conducen a degradación de mRNA, de ahí el nombre "noqueo *(knock-down)* de gen".

SNP: polimorfismo de nucleótido único. Se refiere al hecho de que la variación genética de nucleótido único en la secuencia del genoma existe en *loci* separados en todos los cromosomas. La medición de diferencias de SNP alélicas es útil para estudios de mapeo de gen.

snRNA: RNA nuclear pequeño. Esta familia de RNA se conoce mejor por su función en el procesamiento de mRNA.

Sonda: una molécula usada para detectar la presencia de un fragmento de DNA o RNA específico en, por ejemplo, una colonia de bacterias que se forma a partir de una biblioteca genética o durante análisis por medio de técnicas de electrotransferencia; las sondas comunes son moléculas de cDNA, oligodesoxinucleótidos sintéticos de secuencia definida, o anticuerpos contra proteínas específicas.

Tándem: usado para describir múltiples copias de la misma secuencia (p. ej., DNA) que yacen adyacentes entre sí.

Terminal transferasa: enzima que añade nucleótidos de un tipo (p. ej., residuos desoxiadenonucleotidilo) al extremo 3′ de cadenas de DNA.

Traducción: síntesis de proteína usando mRNA como plantilla.

Traducción de muesca: técnica para marcar DNA que se basa en la capacidad de la DNA polimerasa de *E. coli* para degradar una cadena de DNA que se ha mellado, y después para volver a sintetizar la cadena; si se emplea un nucleósido trifosfato radiactivo, la cadena reconstruida queda marcada, y puede usarse como una sonda radiactiva.

Transcripción: síntesis de ácidos nucleicos dirigida por DNA plantilla; típicamente síntesis de RNA dirigida por DNA.

Transcripción inversa: síntesis de DNA dirigida por RNA, catalizada por la transcriptasa inversa.

Transcriptoma: la colección completa de mRNA expresados en un organismo.

Transgénico: describe la introducción de DNA nuevo hacia células germinales por medio de su inyección hacia el núcleo del huevo.

Variación del número de copias (CNV): cambio del número de copias de regiones de DNA genómicas específicas entre dos o más sujetos. Las CNV pueden ser tan grandes como de 10^6 bp de DNA, e incluir deleciones o inserciones.

Vector: un plásmido o bacteriófago hacia el cual puede introducirse DNA extraño para los propósitos de clonación.

CAPÍTULO 40

Membranas: estructura y función

Robert K. Murray, MD, PhD y Daryl K. Granner, MD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las membranas son estructuras muy fluidas, dinámicas. Las **membranas plasmáticas** forman compartimientos cerrados alrededor del protoplasma celular para definir fronteras celulares. La membrana plasmática tiene **permeabilidades selectivas** y actúa como una barrera, lo que mantiene diferencias de la composición entre el interior y el exterior de la célula. Las permeabilidades selectivas para sustratos e iones son proporcionadas sobre todo por proteínas específicas denominadas **transportadores** y **canales de ion**. La membrana plasmática también intercambia material con el ambiente extracelular por medio de **exocitosis** y **endocitosis**, y hay áreas especiales de la estructura de la membrana —**las uniones intercelulares comunicantes o conexiones comunicantes**— a través de las cuales células adyacentes intercambian material. Además, la membrana plasmática desempeña funciones clave en las **interacciones entre una célula y otra** y en la **emisión de señales transmembrana**.

Las membranas también forman **compartimientos especializados** dentro de la célula. Esas membranas intracelulares ayudan a formar muchas de las estructuras distinguibles desde el punto de vista morfológico (organelos), por ejemplo, mitocondrias, retículo endoplásmico (ER), retículo sarcoplásmico, complejos de Golgi, gránulos secretorios, lisosomas, y la membrana nuclear. Las membranas localizan **enzimas**; funcionan como elementos esenciales en el **acoplamiento entre excitación y respuesta**, y proporcionan sitios de **transducción de energía**, como en la fotosíntesis y la fosforilación oxidativa.

Los **cambios** en la estructura de la membrana (p. ej., causados por isquemia) pueden afectar el equilibrio de agua y el flujo de ion y, en consecuencia, todos los procesos dentro de la célula. Deficiencias o alteraciones específicas de ciertos componentes de membrana (p. ej., originadas por genes con mutaciones que codifican para proteínas de membrana) conducen a diversas **enfermedades** (cuadro 40-7). En pocas palabras, la función celular normal depende de membranas normales.

EL MANTENIMIENTO DE UN AMBIENTE INTRACELULAR Y EXTRACELULAR NORMAL ES FUNDAMENTAL PARA LA VIDA

La vida se originó en un ambiente acuoso, por ende, las reacciones enzimáticas, los procesos celulares y subcelulares, y así sucesivamente, han evolucionado para trabajar en este medio. Dado que los mamíferos viven en un ambiente gaseoso, ¿cómo se mantiene el estado acuoso? Las membranas logran esto mediante internalizar y clasificar en compartimientos el agua corporal.

El agua interna del organismo está compartimentalizada

El agua constituye alrededor de 60% de la masa corporal magra del cuerpo humano, y está distribuida en dos compartimientos grandes.

Líquido intracelular

Este compartimiento constituye dos terceras partes del agua corporal total, y proporciona un ambiente especializado para que la célula: 1) produzca, almacene y utilice energía; 2) se repare a sí misma; 3) se replique, y 4) desempeñe funciones especiales.

Líquido extracelular

Este compartimiento contiene alrededor de una tercera parte del agua corporal total, y está distribuido entre los compartimientos plasmático e intersticial. El líquido extracelular es un **sistema de suministro**. Lleva a las células nutrientes (p. ej., glucosa, ácidos grasos, aminoácidos), oxígeno, diversos iones y oligominerales, y diversas moléculas reguladoras (hormonas) que coordinan las funciones de células que están ampliamente separadas. El líquido extracelular

elimina del ambiente celular inmediato CO_2, productos de desecho, y materiales tóxicos o destoxificados.

Las composiciones iónicas de líquidos intracelulares y extracelulares difieren mucho

El **ambiente interno** tiene alto contenido de K^+ y Mg^{2+}, y el fosfato es su principal anión (cuadro 40-1). El **líquido extracelular** se caracteriza por un contenido alto de Na^+ y Ca^{2+}, y el Cl^- es el principal anión. Asimismo, note que la concentración de glucosa es más alta en el líquido extracelular que en la célula, mientras que ocurre lo contrario para las proteínas. ¿Por qué existen esas diferencias? Se cree que el mar primordial en el cual se originó la vida tenía alto contenido de K^+ y Mg^{2+}. Por consiguiente, resulta que las reacciones enzimáticas y otros procesos biológicos evolucionaron para funcionar mejor en ese ambiente —de ahí las cifras altas de estos iones dentro de las células—. Las células enfrentaron una fuerte presión de selección conforme el mar cambió de modo gradual hacia una composición con alto contenido de Na^+ y Ca^{2+}. Se habrían requerido vastos cambios para la evolución de un juego por completo nuevo de maquinaria bioquímica y fisiológica; en lugar de eso, como sucedió, las **células desarrollaron barreras** —membranas con "bombas" asociadas, como la Na^+-K^+-ATPasa (véase más adelante)— para mantener el microambiente interno.

LAS MEMBRANAS SON ESTRUCTURAS COMPLEJAS COMPUESTAS DE MOLÉCULAS QUE CONTIENEN LÍPIDOS, PROTEÍNAS Y CARBOHIDRATOS

Se discutirán principalmente las membranas que se encuentran en células eucarióticas, aun cuando muchos de los principios descritos también se aplican a las membranas de procariotas. Las diversas membranas celulares tienen **diferentes composiciones**, según se refleja por la **proporción entre proteína y lípido** (fig. 40-1). Esto no sorprende, dadas sus funciones divergentes. Las membranas son estructuras encerradas, parecidas a hoja, que constan de una bicapa lipídica asimétrica con superficies interna y externa bien definidas. Estas estructuras parecidas a hoja son **montajes no covalentes** que se forman de manera espontánea en el agua debido a la naturaleza amfipática de los lípidos. Muchas proteínas están localizadas en las membranas, donde llevan a cabo funciones específicas.

CUADRO 40-1 **Comparación de las concentraciones medias de diversas moléculas fuera y dentro de una célula de mamífero**

Sustancia	Líquido extracelular	Líquido intracelular
Na^+	140 mmol/L	10 mmol/L
K^+	4 mmol/L	140 mmol/L
Ca^{2+} (libre)	2.5 mmol/L	0.1 µmol/L
Mg^{2+}	1.5 mmol/L	30 mmol/L
Cl^-	100 mmol/L	4 mmol/L
HCO_3^-	27 mmol/L	10 mmol/L
PO_4^{3-}	2 mmol/L	60 mmol/L
Glucosa	5.5 mmol/L	0–1 mmol/L
Proteína	2 g/dL	16 g/dL

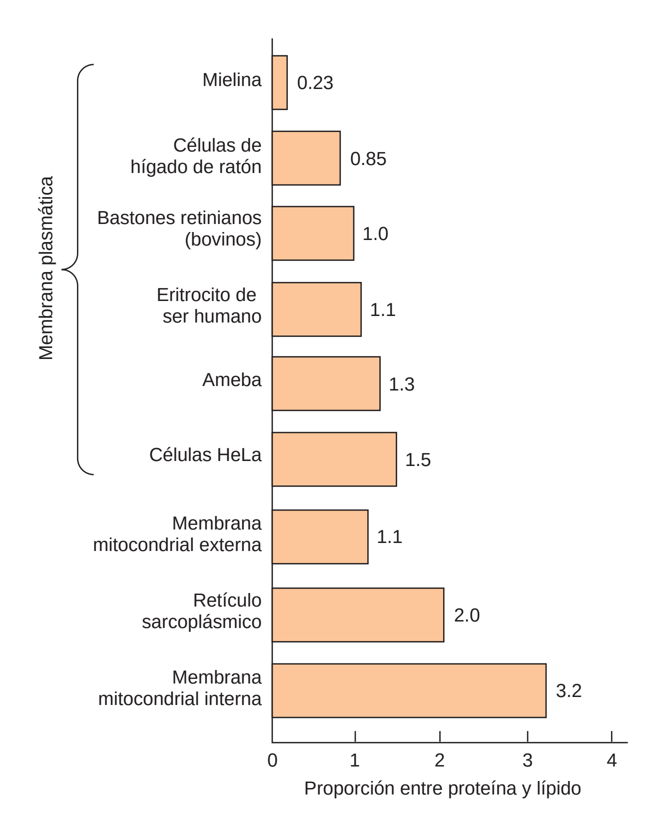


FIGURA 40-1 Proporción entre proteína y lípido en diferentes membranas. Las proteínas igualan o exceden a la cantidad de lípido en casi todas las membranas. La excepción sobresaliente es la mielina, aislador eléctrico que se encuentra en muchas fibras nerviosas.

Los principales lípidos en membranas de mamífero son fosfolípidos, glicoesfingolípidos y colesterol

Fosfolípidos

De las dos clases principales de fosfolípido presentes en las membranas, los **fosfoglicéridos** son los más frecuentes, y constan de un esqueleto de glicerol al cual están fijos dos ácidos grasos en enlace éster, y un alcohol fosforilado (fig. 40-2). Los constituyentes ácido graso por lo general son moléculas de carbono con números pares, que contienen con mayor frecuencia 16 o 18 carbonos. Son no ramificadas, y pueden estar saturadas o insaturadas con uno o más dobles enlaces *cis*. El fosfoglicérido más simple es el ácido fosfatídico, que es el 1,2-diacilglicerol 3-fosfato, un intermediario clave en la formación de otros fosfoglicéridos (cap. 24). En casi todos los fosfoglicéridos presentes en membranas, el 3-fosfato se esterifica

Ácidos grasos

$$\begin{array}{l} R_1-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-O-{}^1CH_2 \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ R_2-\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}-O-{}^2CH \qquad \overset{\displaystyle O^-}{|} \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\quad {}^3CH_2-O-\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{P}}-O-R_3 \end{array}$$

Glicerol Alcohol

FIGURA 40-2 Un fosfoglicérido que muestra los ácidos grasos (R_1 y R_2), glicerol, y un componente alcohol fosforilado. En el ácido fosfatídico, R_3 es hidrógeno.

hacia un alcohol como etanolamina, colina, serina, glicerol o inositol (cap. 15).

La segunda clase importante de fosfolípidos está compuesta de esfingomielina (fig. 15-11), que contiene un esqueleto esfingosina en lugar de glicerol. Un ácido graso está fijo mediante un enlace amida al grupo amino de la esfingosina, lo que forma **ceramida**. El grupo hidroxilo primario de la esfingosina se esterifica hacia fosforilcolina, lo que forma esfingomielina. Como su nombre lo indica, la esfingomielina es notoria en las vainas de mielina.

Las cantidades y composiciones de ácido graso de los diversos fosfolípidos varían entre las diferentes membranas celulares.

Glicoesfingolípidos (GSL)

Son lípidos que contienen azúcar construidos en un esqueleto de ceramida; incluyen la galactosil-ceramida y la glucosil-ceramida (cerebrósidos) y los gangliósidos. Sus estructuras se describen en el capítulo 15. Están localizados principalmente en las membranas plasmáticas de las células.

Esteroles

El esterol más frecuente en las membranas es el **colesterol** (cap. 15), que reside principalmente en las membranas plasmáticas de células de mamífero, pero también puede encontrarse en menores cantidades en las mitocondrias, los complejos de Golgi, y las membranas nucleares. El colesterol se intercala entre los fosfolípidos de la membrana, con su grupo hidroxilo en la interfaz acuosa y el resto de la molécula dentro de la hojuela. Su efecto sobre la fluidez de las membranas se comenta más adelante.

Todos los lípidos anteriores se pueden separar uno de otro por medio de técnicas como cromatografía en columna, de capa delgada, y de gas-líquido, y establecer sus estructuras mediante espectrometría de masa y otras técnicas.

Los lípidos de membrana son anfipáticos

Todos los lípidos importantes en las membranas contienen regiones tanto hidrofóbica como hidrofílica y, por tanto, se llaman **anfipáticos**. Si la región hidrofóbica se separara del resto de la molécula, sería insoluble en agua pero soluble en aceite. Por el contrario, si la región hidrofílica se separara del resto de la molécula, sería insoluble en aceite pero soluble en agua. En la figura 40-3 se representa la naturaleza anfipática de un fosfolípido. Así, los grupos de la cabeza polar de los fosfolípidos y el grupo hidroxilo del colesterol hacen interfaz con el ambiente acuoso; una situación similar se aplica a las porciones azúcar de los GSL (véase más adelante).

Los **ácidos grasos saturados** tienen colas rectas, mientras que los **ácidos grasos insaturados**, que regularmente existen en la forma *cis* en membranas, hacen colas acodadas (fig. 40-3). A medida que más acodamientos se insertan en las colas, la membrana se hace menos aglomerada y, en consecuencia, más líquida.

Los **detergentes** son moléculas anfipáticas importantes en bioquímica así como en el hogar. La estructura molecular de un detergente se parece a la de un fosfolípido. Ciertos detergentes se usan de modo amplio para solubilizar proteínas de membrana como un primer paso en su purificación. El extremo hidrofóbico del detergente se une a las regiones hidrofóbicas de las proteínas, y desplaza casi todos sus lípidos unidos. El extremo polar del detergente es libre, y lleva a las proteínas hacia solución como complejos de detergente-proteína, que por lo general también contienen algunos lípidos residuales.

Los lípidos de membrana forman bicapas

La naturaleza anfipática de los fosfolípidos sugiere que las dos regiones de la molécula tienen solubilidades incompatibles; sin embargo, en un solvente como el agua, los fosfolípidos se organizan por sí mismos hacia una forma que satisface en el aspecto termodinámico los requisitos de solubilidad de ambas regiones. Una **micela** (fig. 40-4) es una estructura de ese tipo; las regiones hidrofóbicas están protegidas contra agua, mientras que los grupos polares hidrofílicos están inmersos en el ambiente acuoso. Empero, las micelas por lo general son relativamente pequeñas (p. ej., alrededor de 200 nm) y, de esta manera, están limitadas en su potencial para formar membranas.

Como reconocieron en 1925 Gorter y Grendel, una **capa bimolecular**, o **bicapa lipídica**, también puede satisfacer los requisitos termodinámicos de moléculas anfipáticas en un ambiente acuoso. En realidad, las **bicapas**, no las micelas, son las **estructuras clave** en las membranas biológicas. Una bicapa existe como una hoja en la

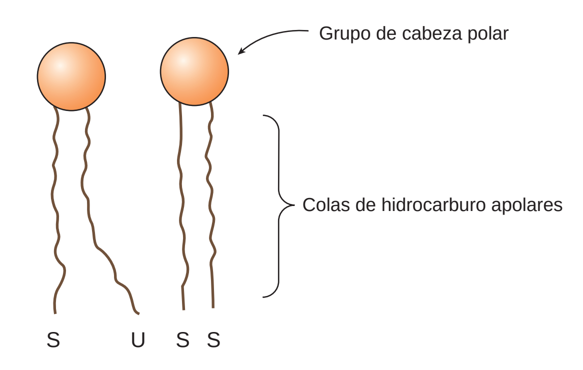


FIGURA 40-3 Representación esquemática de un fosfolípido u otro lípido de membrana. El grupo de cabeza polar es hidrofílico, y las colas de hidrocarburo son hidrofóbicas o lipofílicas. Los ácidos grasos en las colas están saturados (S) o insaturados (U); los primeros regularmente están fijos al carbono 1 del glicerol, y los segundos al carbono 2. Note el acodamiento en la cola del ácido graso insaturado (U), que es importante para conferir incremento de la fluidez de membrana.

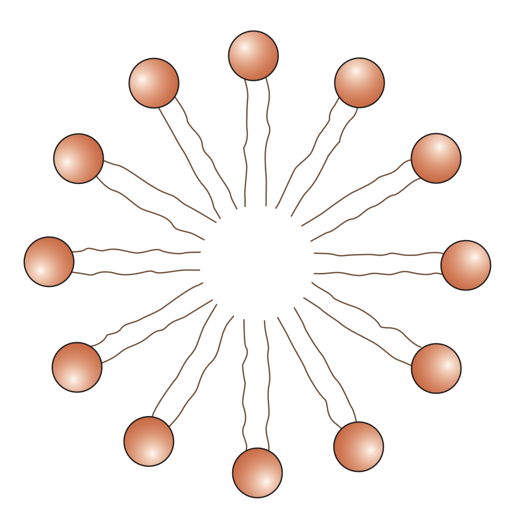


FIGURA 40-4 Corte transversal esquemático de una micela. Los grupos de la cabeza polar están bañados en agua, mientras que las colas de hidrocarburo hidrofóbicas están rodeadas por otros hidrocarburos y, de esta manera, están protegidas contra el agua. Las micelas son estructuras esféricas relativamente pequeñas (en comparación con las bicapas lipídicas).

cual las regiones hidrofóbicas de los fosfolípidos están protegidas del ambiente acuoso, mientras que las regiones hidrofílicas están inmersas en agua (fig. 40-5). Sólo los extremos o bordes de la hoja bicapa están expuestos a un ambiente desfavorable, pero incluso estos bordes expuestos pueden eliminarse por medio de plegado de la hoja hacia sí misma para formar una vesícula encerrada sin bordes. Una bicapa puede extenderse distancias relativamente grandes (p. ej., 1 mm). La bicapa cerrada proporciona una de las propiedades más esenciales de las membranas. Es **impermeable a casi todas las moléculas hidrosolubles**, puesto que serían insolubles en el centro hidrofóbico de la bicapa.

Las bicapas lipídicas se forman mediante **automontaje**, impulsado por el **efecto hidrofóbico** (cap. 2). Cuando las moléculas de lípido se juntan en una bicapa, la entropía de las moléculas solventes circundantes aumenta debido a la liberación de agua inmovilizada.

Surgen dos preguntas a partir de la consideración de lo anterior. En primer lugar, ¿cuántos materiales biológicos son **liposolubles** y, por ende, pueden entrar con facilidad en la célula? Los gases como el oxígeno, CO_2 y nitrógeno —moléculas pequeñas con poca interacción con solventes— se difunden con facilidad a través de las regiones hidrofóbicas de la membrana. En la figura 40-6 se muestran los **coeficientes de permeabilidad** de varios iones y de varias otras moléculas en una bicapa lipídica. Los tres electrólitos que se muestran (Na^+, K^+ y Cl^-) cruzan la bicapa con mucho mayor lentitud que el agua. En general, los coeficientes de permeabilidad de moléculas pequeñas en una bicapa lipídica **se correlacionan con sus solubilidades en solventes no polares**. Por ejemplo, los **esteroides** cruzan con mayor facilidad la bicapa lipídica en comparación con los electrólitos. El coeficiente de permeabilidad alto del **agua** en sí es sorprendente, pero se explica en parte por su tamaño pequeño y falta relativa de carga. Muchos **fármacos** son hidrofóbicos y pueden cruzar con facilidad las membranas y entrar en las células.

La segunda pregunta se refiere a las **moléculas que no son liposolubles**: ¿de qué modo se mantienen los gradientes de concentración transmembrana de moléculas no liposolubles? La respuesta es que **las membranas contienen proteínas**, muchas de las cuales están insertas en la bicapa lipídica en orientaciones singulares. Esas proteínas forman **canales** para el movimiento de iones y moléculas pequeñas, y sirven como **transportadores** para moléculas de mayor tamaño que de otra manera no podrían pasar por la bicapa. Estas estructuras se describen a continuación.

Las proteínas de membrana se relacionan con la bicapa lipídica

Los **fosfolípidos** de membrana actúan como un solvente para proteínas de membrana, y crean un ambiente en el cual estas últimas pueden funcionar. La **estructura helicoidal α de las proteínas** minimiza la naturaleza hidrofílica de los enlaces peptídicos en sí (cap. 5). De este modo, las proteínas pueden ser anfipáticas y formar una parte integral de la membrana al tener regiones hidrofílicas que sobresalen en las caras interna y externa de la membrana, pero que están conectadas por una región hidrofóbica que atraviesa

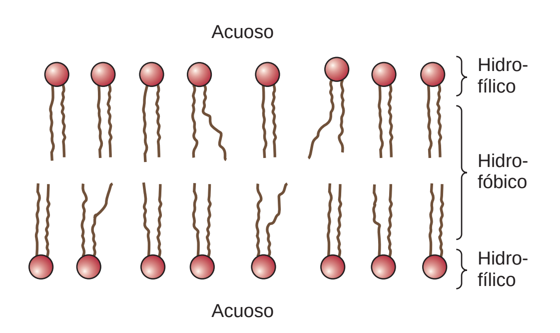


FIGURA 40-5 Diagrama de un corte de una membrana bicapa formada de moléculas de fosfolípido. Las colas de ácido graso insaturado están acodadas y llevan a más espaciado entre los grupos de cabeza polar, y, en consecuencia, a más espacio para movimiento. Esto a su vez da por resultado aumento de la fluidez de membrana. (Modificada un poco, y reproducida, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman, 1981. Copyright ©1981 by W H. Freeman and Company.)

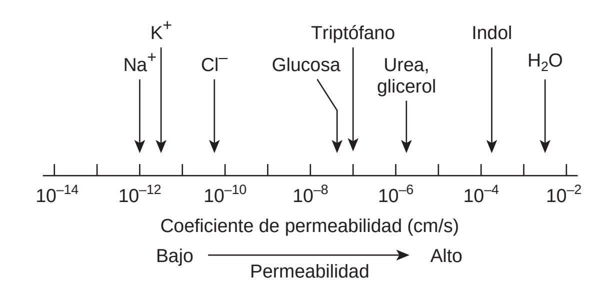


FIGURA 40-6 Coeficientes de permeabilidad del agua, algunos iones, y otras moléculas pequeñas, en membranas bicapa. El coeficiente de permeabilidad es una medida de la capacidad de una molécula para difundirse a través de una barrera de permeabilidad. Se dice que las moléculas que se mueven con rapidez a través de una membrana dada tienen un coeficiente de permeabilidad alto. (Modificada un poco, y reproducida, con autorización, de Stryer L: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman, 1981. Copyright © 1981 by W H. Freeman and Company.)

el centro hidrofóbico de la bicapa. De hecho, esas porciones de las proteínas de membrana que cruzan membranas contienen números considerables de aminoácidos hidrofóbicos, y casi siempre tienen un contenido helicoidal α alto. Para muchas membranas, un tramo de **alrededor de 20 aminoácidos** en una hélice α **abarcará la bicapa**.

Es posible calcular si una secuencia particular de aminoácidos presente en una proteína es congruente con una **ubicación transmembrana**. Esto puede efectuarse al consultar un cuadro que lista las hidrofobicidades de cada uno de los 20 aminoácidos comunes y los valores de energía libre para su transferencia desde el interior de una membrana hacia agua. Los aminoácidos hidrofóbicos tienen valores positivos; los aminoácidos polares tienen valores negativos. Los valores de energía libre total para transferir secuencias sucesivas de 20 aminoácidos en la proteína se grafican, lo que da un denominado **gráfico de hidropatía**. Los valores de más de 20 kcal • mol^{-1} son congruentes con la interpretación de que la secuencia hidrofóbica es un segmento transmembrana, mas no la prueban.

Otro aspecto de la interacción de lípidos y proteínas es que algunas proteínas están ancladas a una hojuela de la bicapa por medio de **enlaces covalentes con ciertos lípidos**. El **palmitato** y **miristato** son ácidos grasos que participan en esos enlaces con proteínas específicas. Varias otras proteínas (cap. 47) están enlazadas con **estructuras glucofosfatidilinositol (GPI)**.

Diferentes membranas tienen diferentes composiciones de proteína

El **número de proteínas diferentes** en una membrana varía desde menos de una docena en el retículo sarcoplásmico hasta más de 100 en la membrana plasmática. Casi todas las proteínas de membrana pueden separarse una de otra usando **electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico** (SDS-PAGE), técnica en la que se separan proteínas con base en su masa molecular. El SDS es un potente detergente que altera interacciones entre lípido y proteína y, así, solubiliza las proteínas de membrana. El SDS también altera las interacciones entre una proteína y otra, y desdobla proteínas. En ausencia de SDS, pocas proteínas de membrana permanecerían solubles.

Las proteínas son las **principales moléculas funcionales** de las membranas, y constan de **enzimas**, **bombas** y **canales**, **componentes estructurales**, **antígenos** (p. ej., para histocompatibilidad), y **receptores** para diversas moléculas. Dado que cada membrana posee una totalidad diferente de proteínas, no existe una estructura de membrana típica. En el cuadro 40-2 se muestran las propiedades enzimáticas de varias membranas.

CUADRO 40-2 Marcadores enzimáticos de diferentes membranas[1]

Membrana	Enzima
Plasmática	5'-nucleotidasa Adenilil ciclasa Na^+-K^+-ATPasa
Retículo endoplásmico	Glucosa-6-fosfatasa
Aparato de Golgi	
Cis	GlcNAc transferasa I
Medial	Golgi manosidasa II
Trans	Galactosil transferasa
TGN	Sialil transferasa
Membrana mitocondrial interna	ATP sintasa

Abreviatura: TGN, red de Golgi *trans*.

[1] Las membranas contienen muchas proteínas, algunas de las cuales tienen actividad enzimática. Algunas de estas enzimas sólo están ubicadas en ciertas membranas y, por ende, pueden usarse como marcadores para vigilar la puri□cación de estas membranas.

Las membranas son estructuras dinámicas

Las membranas y sus componentes son **estructuras dinámicas**. Los **lípidos y las proteínas** en las membranas sufren **recambio**, de la misma manera que lo hacen en otros compartimientos de la célula. Diferentes lípidos tienen distintos índices de recambio, y los índices de recambio de especies individuales de proteínas de membrana pueden variar ampliamente. La membrana en sí puede sufrir recambio con aún más rapidez que cualquiera de sus constituyentes. Esto se comenta con mayor detalle en la sección sobre endocitosis.

Otro indicador de la naturaleza dinámica de las membranas es que diversos estudios han mostrado que los lípidos y ciertas proteínas muestran **difusión lateral** en el plano de sus membranas. Algunas proteínas no muestran difusión lateral porque están fijas al citoesqueleto de actina subyacente. En contraste, el movimiento **transversal** de lípidos a través de la membrana **(“flip-flop”)** es en extremo lento (véase más adelante), y no ocurre en absoluto en el caso de las proteínas de membrana.

Las membranas son estructuras asimétricas

Las proteínas tienen orientaciones singulares en las membranas, lo que hace que las **superficies externas sean diferentes de las internas**. La ubicación externa de los carbohidratos fijos a las proteínas de membrana también proporciona una **asimetría de interior-exterior**. Más aún, proteínas específicas están localizadas de modo exclusivo en el exterior o el interior de las membranas, como en las membranas mitocondrial y plasmática.

Hay **heterogeneidades regionales** en las membranas. Algunas, como sucede en los bordes vellosos de las células mucosas, son visibles casi macroscópicamente. Otras, como las que están en uniones intercelulares comunicantes, zonas de oclusión (uniones intercelulares herméticas), y sinapsis, ocupan regiones de tamaño mucho menor de la membrana, y generan asimetrías locales correspondientemente de menor tamaño.

También hay **asimetría de los fosfolípidos** interna-externa (transversal). Los **fosfolípidos que contienen colina** (fosfatidilcolina y esfingomielina) están localizados principalmente en la **capa molecular externa**; los **aminofosfolípidos** (fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina) están ubicados de preferencia en la **hojuela interna**. Es obvio que, si esta asimetría existe en absoluto, debe haber movilidad transversal limitada (“flip-flop”) de los fosfolípidos de membrana. En realidad, los fosfolípidos en bicapas sintéticas muestran un **índice de “flip-flop” extraordinariamente lento**; la vida media de la asimetría puede medirse en varias semanas.

No se entienden bien los mecanismos comprendidos en el **establecimiento de asimetría de lípido**. Las enzimas involucradas en la síntesis de fosfolípidos están situadas en el lado citoplásmico de las

vesículas de membrana microsómica. Hay translocasas **(flipasas)** que transfieren ciertos fosfolípidos (p. ej., fosfatidilcolina) desde la hojuela interna hacia la externa. **Proteínas específicas que se unen de preferencia** a fosfolípidos individuales también parecen estar presentes en las dos hojuelas, lo que contribuye a la distribución asimétrica de estas moléculas lípidas. Además, las **proteínas de intercambio de fosfolípido** reconocen fosfolípidos específicos y los transfieren desde una membrana (p. ej., el retículo endoplásmico [ER]) hacia otras (p. ej., mitocondrial y peroxisómica). Hay **asimetría adicional** respecto a **GSL** y **glucoproteínas**; y las **porciones azúcar** de estas moléculas **sobresalen hacia afuera** desde la membrana plasmática, y están ausentes de su superficie interna.

Las membranas contienen proteínas integrales y periféricas

Es útil clasificar a las proteínas de membrana en dos tipos: **integrales** y **periféricas** (fig. 40-7). Casi todas las proteínas de membrana caen dentro de la **clase integral**, lo que significa que interactúan de manera extensa con los fosfolípidos y **requieren el uso de detergentes** para su solubilización. Asimismo, por lo general **abarcan la bicapa**. Las proteínas integrales regularmente son **globulares** y son por sí mismas **anfipáticas**. Constan de dos extremos hidrofílicos separados por una región hidrofóbica interpuesta que atraviesa el centro hidrofóbico de la bicapa. Conforme se estuvieron elucidando las estructuras de las proteínas de membrana integrales, quedó de manifiesto que algunas (p. ej., proteínas transportadoras, canales de ion, diversos receptores, y proteínas G) **abarcan la bicapa muchas veces** (fig. 46-7), mientras que otras **abarcan la membrana únicamente una vez**. Las proteínas esenciales también tienen **distribución asimétrica** a través de la bicapa de la membrana. Esta orientación asimétrica se confiere en el momento de su inserción en la bicapa lipídica durante la biosíntesis. Los mecanismos moleculares incluidos en la inserción de proteínas hacia membranas, y el tema del montaje de membrana, se comentan en el capítulo 46.

Las **proteínas periféricas** no interactúan de modo directo con los centros hidrofóbicos de los fosfolípidos en la bicapa y, de esta manera, **no necesitan el uso de detergentes** para su liberación. Están unidas a las regiones hidrofílicas de proteínas integrales específicas y grupos de cabeza de fosfolípidos, y pueden liberarse de ellos mediante tratamiento con **soluciones salinas de alta fuerza iónica**. Por ejemplo, la **anquirina**, una proteína periférica, está unida a la cara interna de la proteína integral “banda tres” de la membrana de los eritrocitos. La **espectrina**, una estructura citoesquelética dentro del eritrocito, a su vez está unida a la anquirina y, de este modo, tiene importancia en el mantenimiento de la forma bicóncava del eritrocito.

LAS MEMBRANAS ARTIFICIALES MODELAN LA FUNCIÓN DE MEMBRANA

Es posible preparar sistemas de membranas artificiales por medio de técnicas apropiadas. Estos sistemas por lo general constan de mezclas de uno o más fosfolípidos de origen natural o sintético que pueden tratarse (p. ej., al usar sonicación leve) para formar vesículas esféricas en las cuales los lípidos forman una bicapa. Esas vesículas, rodeadas por una bicapa lipídica con un interior acuoso, se llaman **liposomas**.

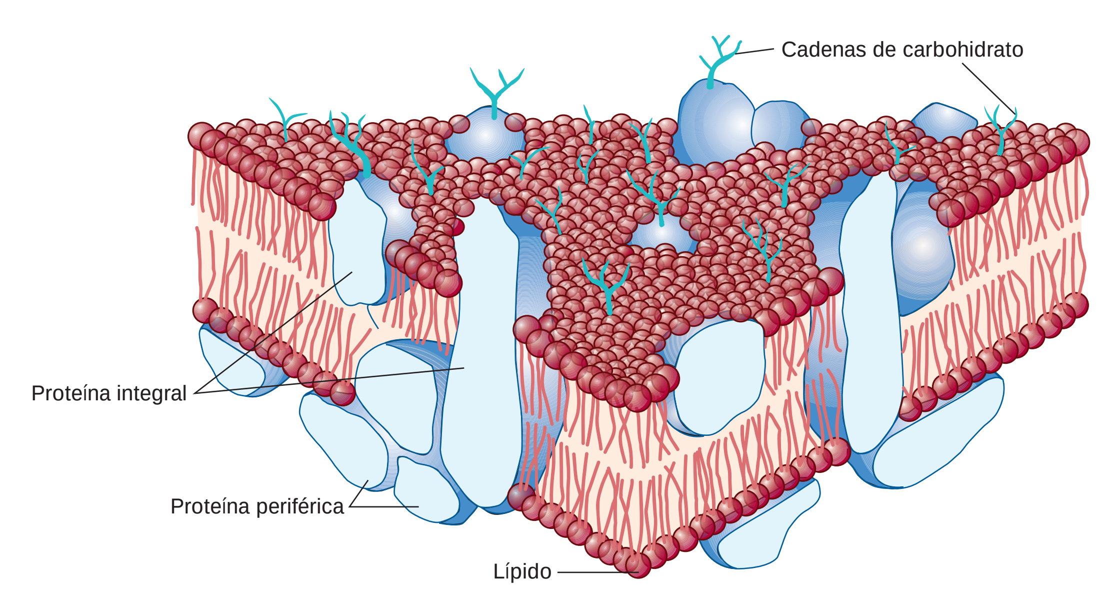


FIGURA 40-7 El modelo de mosaico fluido de la estructura de membrana. La membrana consta de una capa lipídica bimolecular con proteínas insertadas en ella o unidas a una u otra superficie. Las proteínas de membrana integrales están firmemente embebidas en las capas de lípido. Algunas de estas proteínas abarcan por completo la bicapa y se llaman proteínas transmembrana, mientras que otras están embebidas en la hojuela externa o interna de la bicapa lipídica. Las proteínas periféricas están laxamente unidas a la superficie externa o interna de la membrana. Muchas de las proteínas y todos los glucolípidos tienen cadenas de oligosacárido expuestas externamente. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed., McGraw-Hill, 2003.)

Algunas de las ventajas y usos de los sistemas de membrana artificial en el estudio de la función de membrana son:

1. El **contenido de lípido** de las membranas puede variar, lo que permite el examen sistemático de los efectos de la variación de la composición de lípido sobre ciertas funciones.
2. Las **proteínas o enzimas de membranas purificadas** pueden incorporarse hacia estas vesículas para evaluar qué factores (p. ej., lípidos específicos o proteínas auxiliares) requieren las proteínas para reconstituir su función.
3. El ambiente de estos sistemas se puede controlar de manera rígida y variar de modo sistemático (p. ej., concentraciones de ion, ligandos).
4. Cuando se forman liposomas, puede hacerse que atrapen ciertos compuestos dentro de sí mismos, p. ej., medicamentos, y genes aislados. Hay interés por el uso de liposomas para distribuir fármacos hacia ciertos tejidos, y si los componentes (p. ej., anticuerpos contra ciertas moléculas de superficie celular) pudieran incorporarse hacia lisosomas de manera que se dirigieran hacia tejidos o tumores específicos, las repercusiones terapéuticas serían considerables. El DNA atrapado dentro de liposomas parece ser menos sensible al ataque por nucleasas; este método puede resultar útil en intentos de **terapia génica**.

EL MODELO DE ESTRUCTURA DE MEMBRANA DE MOSAICO FLUIDO ES AMPLIAMENTE ACEPTADO

El **modelo de mosaico fluido** de la estructura de membrana, propuesto en 1972 por Singer y Nicolson (fig. 40-7), ahora se acepta ampliamente. El modelo suele equipararse con **icebergs** (proteínas de membrana) **flotando en un mar** de moléculas predominantemente de fosfolípido. La **evidencia** temprana para el modelo fue el dato de que ciertas **proteínas integrales** específicas para especie (detectadas mediante técnicas de marcado fluorescente) se redistribuyeron con rapidez y al azar en la membrana plasmática de una célula híbrida interespecie formada por medio de la fusión inducida artificialmente de dos células progenitoras diferentes. Estudios biofísicos de proteínas integrales mostraron que abarcaron la membrana y tuvieron una naturaleza globular. Después se ha demostrado que los **fosfolípidos** también pasan por redistribución rápida en el plano de la membrana. Esta difusión dentro de dicho plano, denominada **difusión lateral**, puede ser bastante rápida para un fosfolípido; de hecho, dentro del plano de la membrana, una molécula de fosfolípido puede moverse varios micrómetros por segundo.

Los **cambios de fase** —y, así, la **fluidez** de las membranas— **dependen en gran parte de la composición de lípido** de la membrana. En una bicapa lipídica, las cadenas hidrofóbicas de los ácidos grasos pueden estar muy alineadas u ordenadas para proporcionar una estructura más bien rígida. A medida que se incrementa la temperatura, las cadenas laterales hidrofóbicas pasan por una transición desde el estado ordenado (fase más parecida a gel o cristalina) hacia uno desordenado, adoptando una disposición más parecida a líquido o fluida. La temperatura a la cual la estructura pasa por la transición desde ordenada hacia desordenada (es decir, se fusiona) se llama la **“temperatura de transición” (T_m)**. Las cadenas de ácidos grasos más largas y más saturadas interactúan más fuertemente entre sí mediante sus cadenas de hidrocarburo más largas y, de este modo, causan valores más altos de T_m; esto es, se necesitan temperaturas más altas para aumentar la fluidez de la bicapa. Por otro lado, los enlaces insaturados que existen en la configuración *cis* tienden a incrementar la fluidez de una bicapa al disminuir lo compacto de la aglomeración de la cadena lateral sin producir decremento de la hidrofobicidad (fig. 40-3). Los fosfolípidos de membranas celulares generalmente contienen al menos un ácido graso insaturado con por lo menos un enlace doble *cis*.

El **colesterol** modifica la fluidez de las membranas. A temperaturas por debajo de la T_m, interfiere con la interacción de las colas de hidrocarburo de ácidos grasos y, de esta manera, aumenta la fluidez. A temperaturas por arriba de T_m, limita el desorden porque es más rígido que las colas de hidrocarburo de los ácidos grasos y no puede moverse en la membrana al mismo grado, lo que limita la fluidez. A proporciones altas entre colesterol y fosfolípidos, las temperaturas de transición son del todo indistinguibles.

La **fluidez** de una membrana afecta de modo significativo sus **funciones**. Conforme la fluidez de membrana se incrementa, también lo hace su **permeabilidad** al agua y otras moléculas hidrofílicas pequeñas. La movilidad lateral de proteínas integrales aumenta a medida que la fluidez de la membrana se incrementa. Si el sitio activo de una proteína integral involucrada en una función dada está exclusivamente en sus regiones hidrofílicas, el cambio de la fluidez de lípido probablemente tendrá poco efecto sobre la actividad de la proteína; con todo, si la proteína participa en una función de transporte en la cual los componentes de transporte abarcan la membrana, los efectos de la fase lípida pueden alterar de manera importante el **índice de transporte**. El **receptor de insulina** es un excelente ejemplo de función alterada con los cambios de la fluidez. Conforme se aumenta la concentración de ácidos grasos insaturados en la membrana (al cultivar células en un medio rico en esas moléculas), la fluidez se incrementa. Esto altera el receptor de modo que se une a más insulina. A temperatura normal del cuerpo (37° centígrados) la bicapa lipídica se encuentra en un estado líquido.

Las balsas de lípido, caveolas y zonas de oclusión (uniones intercelulares herméticas) son características especializadas de las membranas plasmáticas

Las membranas plasmáticas contienen **ciertas estructuras especializadas** cuyas naturalezas bioquímicas se han investigado con cierto detalle.

Las balsas de lípido son áreas especializadas de la hojuela exoplásmica de la bicapa lipídica, enriquecidas con colesterol, esfingolípidos y ciertas proteínas (fig. 40-8). Participan en la **transducción de señal** y en **otros procesos**. Se cree que la agrupación de ciertos componentes de sistemas de emisión de señales estrechamente juntos quizá aumente la eficiencia de su función.

Las **caveolas** pueden derivarse de las balsas de lípido. Muchas, si no es que todas, contienen la proteína **caveolina-1**, que tal vez participe en su formación a partir de balsas. Las caveolas son observables por medio de microscopia electrónica como indentaciones en forma de matraz de la membrana celular que miran hacia el citosol (fig. 40-9). Las proteínas detectadas en caveolas comprenden varios componentes del sistema de transducción de señal (p. ej., el receptor de insulina y algunas proteínas G), el receptor de folato, y la óxido nítri-

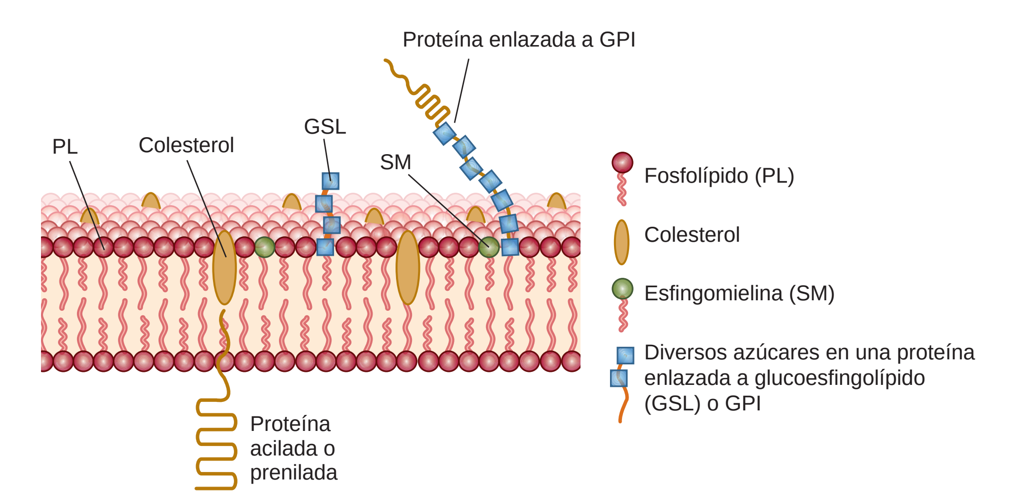


FIGURA 40-8 Diagrama esquemático de una balsa de lípido. Las balsas de lípido son un poco más gruesas que el resto de la bicapa. Están enriquecidas con esfingolípidos (p. ej., esfingomielina), glicoesfingolípidos (p. ej., el gangliósido GM_1), fosfolípidos saturados, y colesterol. Asimismo, contienen ciertas proteínas enlazadas a GPI (hojuela externa) y proteínas aciladas y preniladas (hojuela interna). Las proteínas enlazadas a GPI se comentan en el capítulo 47. La acilación y prenilación son modificaciones postraduccionales de ciertas proteínas de membrana.

co sintasa endotelial (eNOS). Las caveolas y las balsas de lípido son áreas de investigación activa, y las ideas respecto a ellas y sus posibles papeles en diversos trastornos están evolucionando con rapidez.

Las **zonas de oclusión (uniones intercelulares herméticas)** son otras estructuras que se encuentran en membranas de superficie. A menudo están localizadas por debajo de las superficies apicales de células epiteliales y **evitan la difusión de macromoléculas entre células**. Están compuestas de **diversas proteínas**, entre ellas ocludina, diversas claudinas y moléculas de adherencia de unión.

Aún **otras estructuras especializadas** que se encuentran en membranas de superficie son **desmosomas**, **uniones adherentes** y **microvellosidades**; sus naturalezas y funciones químicas no se comentan aquí. La naturaleza de las **uniones intercelulares comunicantes** se describe más adelante.

LA SELECTIVIDAD DE MEMBRANA PERMITE AJUSTES DE LA COMPOSICIÓN Y LA FUNCIÓN CELULARES

Si la membrana plasmática es relativamente impermeable, **¿de qué manera casi todas las moléculas entran en una célula?** ¿De qué modo se establece la **selectividad** de este movimiento? Las respuestas a esas preguntas son importantes para entender cómo las células se ajustan a un ambiente extracelular en cambio constante. Los organismos metazoarios también deben tener **medios de comunicación** entre células adyacentes y distantes, de modo que puedan coordinarse los procesos biológicos complejos. Estas **señales** deben llegar a la membrana y ser transmitidas por la misma, o **generarse** como consecuencia de alguna interacción con la membrana. En el cuadro 40-3 se listan algunos de los mecanismos principales usados para lograr estos tres diferentes objetivos.

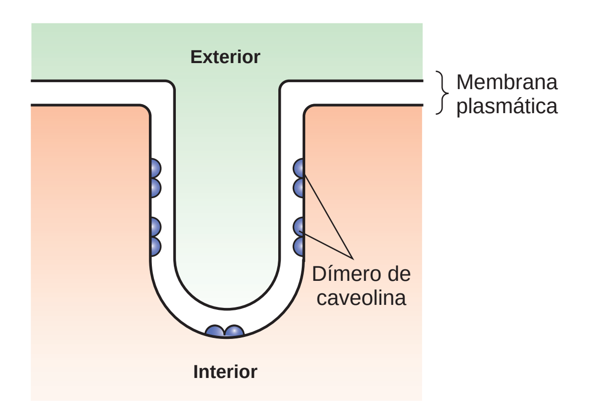


FIGURA 40-9 Diagrama esquemático de una caveola. Una caveola es una invaginación en la membrana plasmática. La proteína caveolina parece tener importancia en la formación de caveolas, y se encuentra como un dímero. Cada monómero de caveolina está fijo a la hojuela interna de la membrana plasmática mediante tres moléculas de palmitoilo (que no se muestran).

La difusión pasiva que incluye transportadores y canales de ion mueve muchas moléculas pequeñas a través de membranas

Las moléculas pueden atravesar **de manera pasiva** la bicapa a favor de gradientes electroquímicos mediante **difusión simple** o por medio de **difusión facilitada**. Este movimiento espontáneo hacia el equilibrio contrasta con el **transporte activo**, que **requiere energía** porque constituye movimiento contra un gradiente electroquímico. En la figura 40-10 se proporciona una representación esquemática de estos mecanismos. Primero se describirán diversos aspectos del transporte pasivo, y luego, aspectos del transporte activo.

En primer lugar, se definirán los diversos términos. La **difusión simple** es el flujo pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja debido al movimiento térmico al azar. La **difusión facilitada** es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja, mediado por un transportador proteínico específico. El **transporte activo** es el transporte de un soluto a través de una membrana contra un gradiente de concentración y, así, necesita energía (que suele derivarse de la hidrólisis de ATP); participa un transportador específico **(bomba)**.

Como se mencionó en este capítulo, algunos solutos, como los gases, pueden entrar en la célula mediante difusión a favor de un gradiente electroquímico a través de la membrana, y no requieren energía metabólica. La **difusión simple** de un soluto a través de la membrana está limitada por la **agitación térmica** de esa molécula específica, por el **gradiente de concentración** a través de la membrana, y por la **solubilidad** de ese soluto (el coeficiente de permeabilidad, fig. 40-6) en el centro hidrofóbico de la bicapa de la membrana.

CUADRO 40-3 Transferencia de material e información a través de membranas

Movimiento de moléculas pequeñas a través de membrana
Difusión (pasiva y facilitada) Transporte activo
Movimiento de moléculas grandes a través de membrana
Endocitosis Exocitosis
Transmisión de señal a través de membranas
Receptores de superficie celular 1. Transducción de señal (p. ej., glucagon → cAMP) 2. Internalización de señal (acoplada con endocitosis, p. ej., el receptor de LDL) Movimiento hacia receptores intracelulares (hormonas esteroides; una forma de difusión)
Contacto y comunicación intercelulares
Difusión pasiva (simple) es el flujo de soluto desde una concentración más alta hacia una más baja debido a movimiento térmico al azar Difusión facilitada es el transporte pasivo de un soluto desde una concentración más alta hacia una más baja, mediado por un transportador proteínico específico Transporte activo es el transporte de un soluto a través de una membrana en la dirección de concentración creciente, y esto requiere energía (a menudo derivada de la hidrólisis de ATP); está involucrado un transportador específico (bomba)

Los otros términos que se usan en este cuadro se explican más adelante en este capítulo o en otro lugar en este libro.

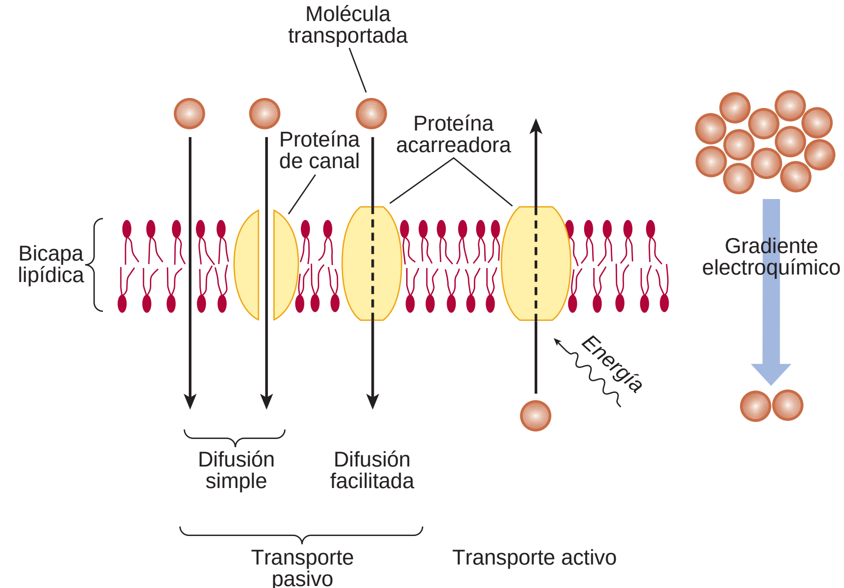
La **solubilidad** es inversamente proporcional al número de enlaces de hidrógeno que es necesario que se rompan para que un soluto en la fase acuosa externa quede incorporado en la bicapa hidrofóbica. Los electrólitos, poco solubles en lípido, no forman enlaces de hidrógeno con agua, pero **adquieren una concha de agua** por hidratación por medio de interacción electrostática. El tamaño de la concha es directamente proporcional a la **densidad de carga** del electrólito. Los electrólitos con una densidad de carga grande tienen una concha de hidratación de mayor tamaño y, de este modo, un índice de difusión más lento. Por ejemplo, el Na^+ tiene una densidad de carga más alta que el K^+. Por consiguiente, el Na^+ hidratado es de mayor tamaño que el K^+ hidratado; por tanto, este último tiende a moverse con mayor facilidad a través de la membrana.

Los factores que siguen afectan la **difusión neta** de una sustancia: 1) su **gradiente de concentración** a través de la membrana. Los solutos se mueven desde concentración alta hacia baja. 2) El **potencial eléctrico** a través de la membrana. Los solutos se mueven hacia la solución que tiene la carga opuesta. El interior de la célula por lo general tiene una carga negativa. 3) El **coeficiente de permeabilidad** de la sustancia para la membrana. 4) El **gradiente de presión** hidrostático a través de la membrana. La presión incrementada aumentará el índice y la fuerza de la colisión entre las moléculas y la membrana. 5) **Temperatura**. La temperatura incrementada aumentará el movimiento de partículas y, de esta manera, incrementará la frecuencia de las colisiones entre partículas externas y la membrana.

La **difusión facilitada** comprende ciertos **transportadores** o **canales de iones** (fig. 40-11). **Otros transportadores** (en su mayor parte impulsados por ATP) participan en el **transporte activo**. Muchos **transportadores y canales** existen en las membranas biológicas que dirigen la entrada de iones a las células y la salida de iones desde estas últimas. Se describen en las secciones que siguen. En el cuadro 40-4 se resumen algunos puntos importantes de la diferencia entre transportadores y canales de ion.

Los transportadores son proteínas específicas involucradas en la difusión facilitada y en el transporte activo

Los sistemas de transporte pueden describirse en un sentido funcional de acuerdo con el número de moléculas movidas y la dirección del movimiento (fig. 40-12), o de acuerdo con si el movimiento es hacia el equilibrio o en dirección contraria a este último. La **clasificación** que sigue depende principalmente del primer aspecto. Un sistema de **uniporte** mueve un tipo de molécula de modo bidireccional. En sistemas de **cotransporte**, la transferencia de un soluto depende de la transferencia simultánea o secuencial estoiquiométrica de otro soluto. Un **simporte** mueve dos solutos en la misma dirección. Los ejemplos son el transportador de protón-azúcar en bacte-



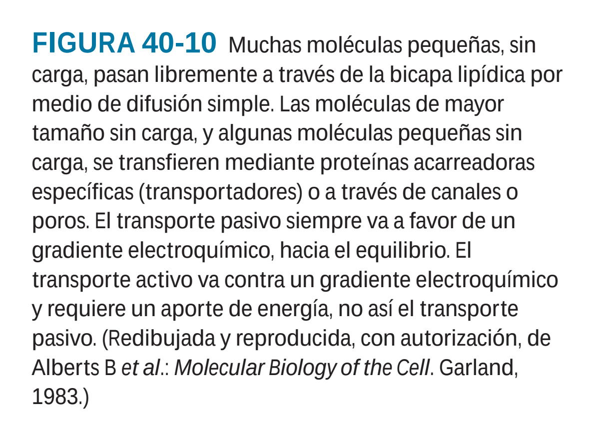


FIGURA 40-10 Muchas moléculas pequeñas, sin carga, pasan libremente a través de la bicapa lipídica por medio de difusión simple. Las moléculas de mayor tamaño sin carga, y algunas moléculas pequeñas sin carga, se transfieren mediante proteínas acarreadoras específicas (transportadores) o a través de canales o poros. El transporte pasivo siempre va a favor de un gradiente electroquímico, hacia el equilibrio. El transporte activo va contra un gradiente electroquímico y requiere un aporte de energía, no así el transporte pasivo. (Redibujada y reproducida, con autorización, de Alberts B *et al*.: *Molecular Biology of the Cell*. Garland, 1983.)

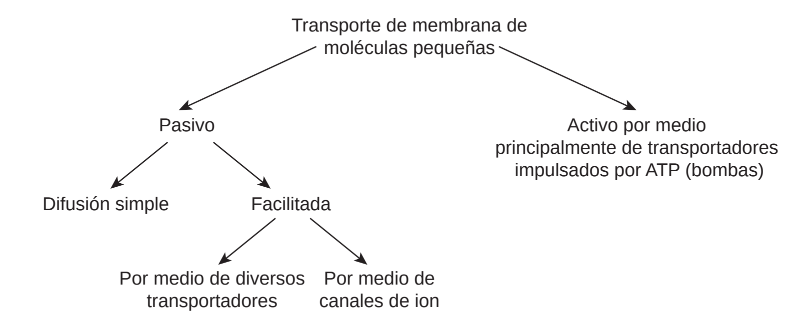


FIGURA 40-11 Diagrama esquemático de los dos tipos de transporte de membrana de moléculas pequeñas.

rias, y los transportadores de NA^+-azúcar (para glucosa y algunos otros azúcares), y transportadores de Na^+-aminoácido en células de mamífero. Los sistemas de **antiporte** mueven dos moléculas en direcciones opuestas (p. ej., Na^+ hacia adentro, y Ca^{2+} hacia afuera).

Las moléculas hidrofílicas que no pueden pasar libremente a través de la membrana bicapa lipídica lo hacen de manera pasiva mediante **difusión facilitada** o por medio de **transporte activo**. El transporte pasivo es impulsado por el gradiente transmembrana del sustrato. El transporte activo siempre ocurre contra un gradiente eléctrico o químico y, así, necesita energía, regularmente ATP. Ambos tipos de transporte incluyen **proteínas acarreadoras específicas** (transportadores), y ambos muestran **especificidad** por iones, azúcares y aminoácidos. El transporte pasivo y activo **semeja una interacción entre sustrato y enzima**. Los puntos de semejanza de ambos con la acción enzimática son: 1) hay un sitio de unión específico para el soluto. 2) El acarreador es saturable, de modo que hay un índice de transporte máximo ($V_{máx}$; fig. 40-13). 3) Hay una constante de unión (K_m) para el soluto y, de esta manera, todo el sistema tiene una K_m (fig. 40-13). 4) Inhibidores competitivos similares en el aspecto estructural bloquean el transporte. De este modo, los transportadores son como enzimas, pero en general no modifican sus sustratos.

Los **cotransportadores** usan el gradiente de un sustrato creado mediante transporte activo para impulsar el movimiento del otro sustrato. El gradiente de Na^+ producido por la Na^+-K^+-ATPasa se usa para impulsar el transporte de diversos metabolitos importantes. La ATPasa es un ejemplo muy importante de **transporte primario**, mientras que los sistemas dependientes de Na^+ son ejemplos de **transporte secundario** que depende del gradiente producido por otro sistema. Así, la inhibición de la Na^+-K^+-ATPasa en las células también bloquea la captación (dependiente de Na^+) de sustancias como la glucosa.

La difusión facilitada está mediada por diversos transportadores específicos

Algunos solutos específicos se difunden a favor de gradientes electroquímicos a través de membranas con **mayor rapidez** de lo que podría esperarse a partir de su tamaño, carga, o coeficiente de partición. Esto se debe a la participación de transportadores específicos. Esta **difusión facilitada** muestra proteínas distintas de las de la difusión simple. El índice de difusión facilitada, un sistema de uniporte, se puede **saturar**; o sea, el número de sitios involucrados en la difusión de los solutos específicos parece ser finito. Muchos sistemas de difusión facilitada son **estereoespecíficos** pero, al igual que la difusión simple, están **impulsados por el gradiente electroquímico transmembrana**.

Un **mecanismo de "ping-pong"** (fig. 40-14) ayuda a explicar la difusión facilitada. En este modelo, la proteína acarreadora existe en dos conformaciones principales. En el estado **"ping"**, está expuesta a cifras altas de soluto, y las moléculas de este último se unen a sitios específicos en la proteína acarreadora. La unión induce un **cambio conformacional** que expone al acarreador a una concentración más baja de soluto (estado **"pong"**). Este proceso es por completo **reversible**, y el flujo neto a través de la membrana depende del gradiente de concentración. El **índice** al cual los solutos entran en una célula

CUADRO 40-4 Comparación de transportadores y canales de ion

Transportadores	Canales de ion
Se unen a soluto y pasan por cambios conformacionales, transfiriendo el soluto a través de la membrana	Forman poros en membranas
Involucrados en el transporte pasivo (difusión facilitada) y activo	Involucrados sólo en el transporte pasivo
El transporte es significativamente más lento que por medio de canales de ion	El transporte es significativamente más rápido que por medio de transportadores

Nota: los transportadores también se conocen como acarreadores o permeasas. Los transportadores activos a menudo se llaman bombas.

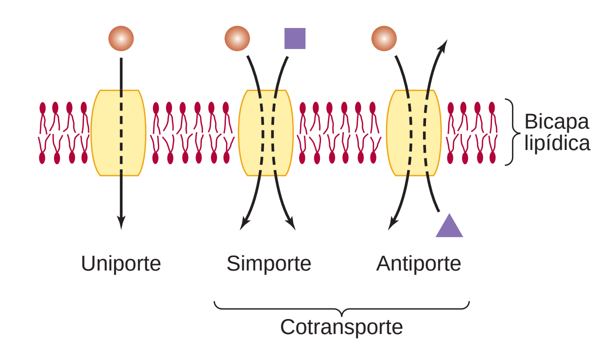


FIGURA 40-12 Representación esquemática de los tipos de sistemas de transporte. Los transportadores pueden clasificarse respecto a la dirección del movimiento y al hecho de si una o más moléculas únicas se mueven. Un uniporte también puede permitir el movimiento en la dirección opuesta, dependiendo de las concentraciones dentro y fuera de una célula de la molécula transportada. (Redibujada y reproducida, con autorización, de Alberts B et al: *Molecular Biology of the Cell.* Garland, 1983.)

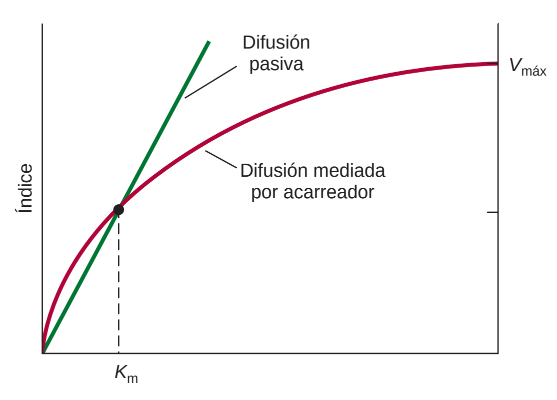


FIGURA 40-13 Una comparación de la cinética de difusión mediada por acarreador (facilitada) con la difusión pasiva. El índice de movimiento en esta última es directamente proporcional a las cifras de soluto, mientras que el proceso es saturable cuando hay acarreadores comprendidos. La concentración a velocidad de la mitad del máximo es igual a la constante de unión (K_m) del acarreador para el soluto. ($V_{máx}$, índice máximo.)

por medio de difusión facilitada está determinado por los factores que siguen: 1) el gradiente de concentración a través de la membrana. 2) La cantidad de acarreador disponible (éste es un paso de control clave). 3) La afinidad de la interacción entre soluto y acarreador. 4) La rapidez del cambio conformacional para el acarreador tanto cargado como el descargado.

Las **hormonas** pueden regular la difusión facilitada al cambiar el número de transportadores disponibles. La **insulina** mediante una vía de emisión de señales compleja aumenta el transporte de glucosa en la grasa y el músculo al reclutar transportadores que provienen de un reservorio intracelular. Asimismo, la insulina incrementa el transporte de aminoácidos en el hígado y otros tejidos. Una de las acciones coordinadas de las **hormonas glucocorticoides** es aumentar el transporte de aminoácidos hacia el hígado, donde los aminoácidos sirven entonces como un sustrato para la gluconeogénesis. La **hormona de crecimiento** incrementa el transporte de aminoácidos hacia todas las células, y los **estrógenos** hacen esto en el útero. Hay al menos cinco sistemas acarreadores diferentes para aminoácidos en células de animales. Cada uno es específico para un grupo de aminoácidos estrechamente relacionados, y casi todos operan como sistemas de simporte de Na^+ (fig. 40-12).

Los canales de iones son proteínas transmembrana que permiten la entrada selectiva de diversos iones

Las membranas naturales contienen canales transmembrana, estructuras parecidas a poro compuestas de proteínas que constituyen **canales de iones** selectivos. Los canales que conducen catión tienen un diámetro promedio de aproximadamente 5 a 8 nm. La **permeabilidad** de un canal depende del tamaño, la magnitud de la hidratación, y la magnitud de la densidad de carga sobre el ion. Se han identificado los **canales específicos** para Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-; en la figura 40-15 se ilustra un canal de **Na^+** de ese tipo. Se ha observado que consta de cuatro subunidades. Cada subunidad está compuesta de seis dominios transmembrana helicoidales α. Las terminales amino y carboxilo están localizadas en el citoplasma; hay asas tanto extracelular como intracelular presentes. No se muestra el poro real en el canal a través del que pasan los iones. Un poro constituye el centro (diámetro de alrededor de 5 a 8 nm) de una estructura formada por aposición de las subunidades. Los canales de ion son muy **selectivos**; casi siempre permiten el paso de sólo un tipo de ion (Na^+, Ca^{2+}, etc.). El **filtro de selectividad** de canales de K^+ está constituido por un anillo de grupos carbonilo donados por las subunidades. Los carbonilos desplazan el agua unida desde el ion y, de esta manera, restringen su tamaño a dimensiones precisas apropiadas para paso por el canal. Se encuentran muchas variaciones del tema estructural anterior, pero todos los canales de ion básicamente están formados de unidades transmembrana que se unen para formar un poro central a través del cual los iones pasan de modo selectivo.

Las membranas de **células nerviosas** contienen canales de iones bien estudiados que se encargan de la generación de potenciales de acción. La actividad de algunos de estos canales está controlada por neurotransmisores; en consecuencia, la actividad de canal se puede **regular**.

Los canales del ion se abren de manera transitoria y, de este modo, tienen **"compuerta"**. Las compuertas se pueden controlar al abrirse o cerrarse. En **canales activados por ligando**, una molécula específica se une a un receptor y abre el canal. Los **canales activados por voltaje** se abren (o se cierran) en respuesta a cambios del potencial de membrana. Los **canales con compuerta mecánica** muestran respuesta a estímulos mecánicos (presión, tacto).

En los cuadros 40-4 y 40-5 se listan algunas propiedades de los canales de iones; otros aspectos de dichos canales se comentan brevemente en el capítulo 48.

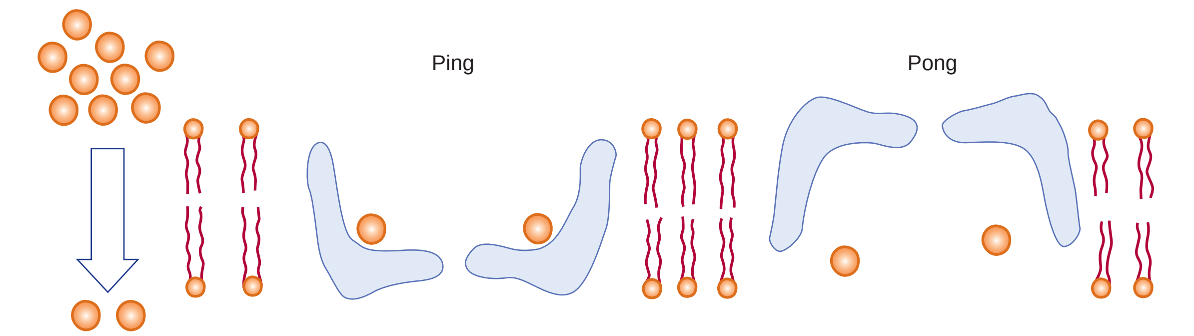


FIGURA 40-14 El modelo de "ping-pong" de la difusión facilitada. Un acarreador proteínico (estructura de color azul) en la bicapa lipídica se relaciona con un soluto en concentraciones altas en un lado de la membrana. Surge un cambio conformacional ("ping" hacia "pong"), y el soluto se descarga en el lado que favorece el nuevo equilibrio. El acarreador vacío a continuación se revierte hacia la conformación original ("pong" hacia "ping") para completar el ciclo.

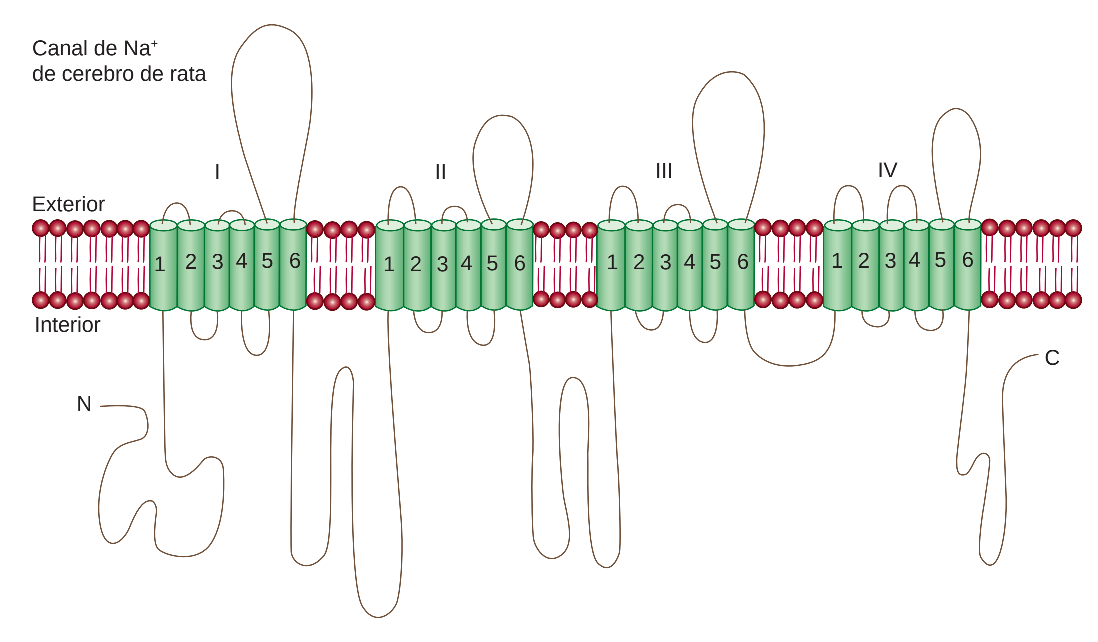


FIGURA 40-15 Representación esquemática de las estructuras de un canal de ion (un canal de Na^+ de cerebro de rata). Los números romanos indican las cuatro subunidades del canal, y los números arábigos los dominios transmembrana helicoidales α de cada subunidad. El poro real a través del cual pasan los iones (Na^+) no se muestra, pero se forma por aposición de las diversas subunidades. Tampoco se indican las áreas específicas de las subunidades incluidas en la abertura y el cierre del canal. (Según WK Catterall. Modificada y reproducida, con autorización, de Hall ZW: *An Introduction to Molecular Neurobiology.* Sinauer, 1992.)

Estudios detallados de un canal de K^+ y de un canal activado por voltaje han proporcionado información importante en cuanto a sus acciones

Hay por lo menos cuatro características de los canales de ion que deben elucidarse: 1) su estructura general; 2) cómo conducen los iones con tanta rapidez; 3) su selectividad, y 4) sus propiedades de compuerta. Como se describe más adelante, se ha logrado considerable progreso en abordar estos problemas difíciles.

Roderick MacKinnon, galardonado con el premio Nobel por elucidar la estructura y la función de un canal de K^+ (KvAP) presente en *Streptomyces lividans*, ha hecho especial progreso. Se emplearon diversas técnicas, entre ellas mutagénesis dirigida hacia sitio, y cristalografía con rayos X. El canal es una proteína de membrana integral compuesta de cuatro subunidades idénticas, cada una con dos segmentos transmembrana, lo que crea una estructura parecida a tipi (tienda de piel de forma cónica que utilizaban como vivienda los indios de las praderas de Norteamérica) invertido (fig. 40-16). La parte de los canales que confiere selectividad para ion (el **filtro de selectividad**) mide 12 Å de largo (un tramo relativamente corto de la membrana, de manera que el K^+ no tiene que viajar mucho en ella) y está situado en el extremo ancho del tipi invertido. La cavidad grande, llena de agua, y los dipolos helicoidales que se muestran en la figura 40-16 ayudan a superar la barrera de energía electrostática relativamente grande para que un catión cruce la membrana. El **filtro de selectividad** está revestido con átomos de oxígeno carbonilo (aportados por una secuencia de TVGYG), lo que proporciona varios sitios con los cuales el K^+ puede interactuar. Los iones de K^+, que se deshidratan a medida que entran al filtro de selectividad estrecho, se adaptan con coordinación apropiada hacia el filtro, pero el Na^+ es demasiado pequeño como para interactuar con los átomos de oxígeno carbonilo en la alineación correcta, y se rechaza. Dos iones de K^+, cuando se acercan uno a otro en el filtro, se repelen entre sí. Esta repulsión vence interacciones entre el K^+ y la molécula de proteína circundante, y permite conducción muy rápida de K^+ con selectividad alta.

Otros estudios sobre un **canal de ion activado por voltaje** (HvAP) en *Aeropyrum pernix* han revelado muchas características de sus mecanismos de detección de voltaje y de sensibilidad a voltaje. Este canal está formado de cuatro subunidades, cada una con seis segmentos transmembrana. Uno de los seis segmentos (S4 y parte de S3) es el sensor de voltaje. Se comporta como un **remo cargado**

CUADRO 40-5 Algunas propiedades de los canales de ion

- Están compuestos de subunidades de proteína transmembrana.
- Casi todos son muy selectivos para un ion; algunos son no selectivos.
- Permiten que iones impermeables crucen membranas a índices que se aproximan a los límites de difusión.
- Pueden permitir ujos de ion de 106 a 107/s.
- Sus actividades están reguladas.
- Los principales tipos son activado por voltaje, activado por ligando, y de compuerta mecánica.
- Por lo general están muy conservados a través de las especies.
- Casi todas las células tienen diversos canales de Na^+, K^+, Ca^{2+} y Cl^-.
- Las mutaciones en genes que codiican para ellos pueden causar enfermedades especícas.[1]
- Sus actividades son afectadas por ciertos fármacos.

[1]Algunas enfermedades causadas por mutaciones de canales de iones se comentan brevemente en el capítulo 49.

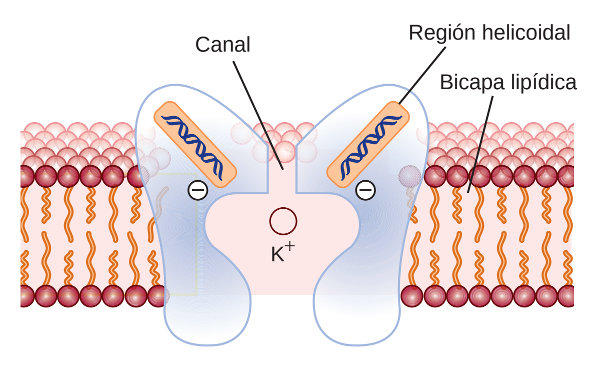


FIGURA 40-16 Diagrama esquemático de la estructura de un canal de K^+ (KvAP) de *Streptomyces lividans*. Un K^+ único se muestra en una cavidad acuosa grande dentro del interior de la membrana. Dos regiones helicoidales de la proteína del canal están orientadas con sus extremos carboxilato señalando hacia dónde está localizado el K^+. El canal está revestido por oxígeno carboxilo. (Modificada, con autorización, de Doyle DA et al: Science 1998;280:69. Copyright © 1998 AAAS.)

(fig. 40-17), por cuanto puede moverse por el interior de la membrana transfiriendo cuatro cargas positivas (debido a cuatro residuos Arg en cada subunidad) desde una superficie de membrana hacia otra en respuesta a cambios de voltaje. Hay cuatro sensores de voltaje en cada canal, enlazados a la compuerta. La parte compuerta del canal está construida de hélices S6 (una desde cada una de las subunidades). Los movimientos de esta parte del canal en respuesta a voltaje cambiante cierran con eficacia el canal o lo vuelven a abrir; en este último caso permiten que cruce una corriente de iones.

Los ionóforos son moléculas que actúan como transbordadores de membrana para diversos iones

Ciertos microbios sintetizan moléculas orgánicas cíclicas pequeñas, los **ionóforos**, **como la valinomicina**, que funcionan como transbordadores para el movimiento de iones (K^+ en el caso de la valinomicina) a través de membranas. Estos ionóforos contienen centros hidrofílicos que se unen a iones específicos y están rodeados por regiones hidrofóbicas periféricas; esta disposición permite que las moléculas se disuelvan con eficacia en la membrana y que se difundan de modo transversal ahí. Otros, como el polipéptido bien estudiado **gramicidina** (un antibiótico), forman canales.

Las toxinas microbianas, como la **toxina diftérica** y **componentes de complemento sérico** activados, pueden producir poros grandes en membranas celulares y, así, proporcionan a macromoléculas acceso directo al medio interno. La toxina **hemolisina** α (producida por ciertas especies de *Streptococcus*) consta de siete subunidades que se unen para formar un barril β que permite el escape de metabolitos hacia afuera de las células, lo que suscita lisis celular.

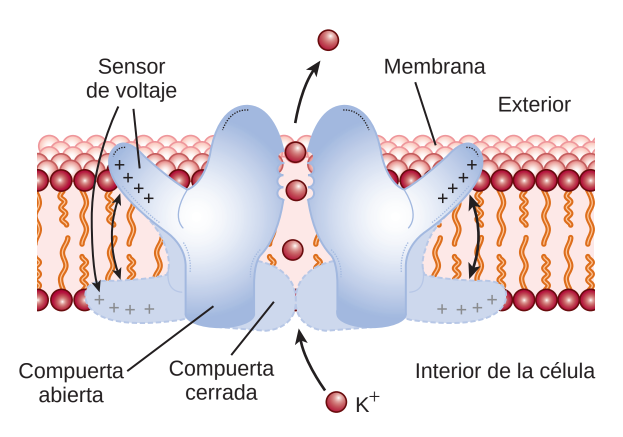


FIGURA 40-17 Diagrama esquemático del canal de K^+ activado por voltaje de *Aeropyrum pernix*. Los sensores de voltaje se comportan como remos cargados que se mueven a través del interior de la membrana. Cuatro sensores de voltaje (aquí únicamente se muestran dos) están enlazados mecánicamente a la compuerta del canal. Cada sensor tiene cuatro cargas positivas aportadas por residuos arginina. (Modificada, con autorización, de Sigworth FJ: Nature 2003;423:21. Copyright © 2003. Macmillan Publishers Ltd.)

Las acuaporinas son proteínas que forman canales de agua en ciertas membranas

En ciertas células (p. ej., eritrocitos, células de los conductillos colectores de los riñones), el movimiento de agua por medio de difusión simple aumenta por movimiento a través de **canales de agua**. Estos canales están compuestos de proteínas transmembrana tetraméricas denominadas **acuaporinas**. Se han identificado al menos 10 acuaporinas (AP-1 a AP-10). Estudios cristalográficos y de otros tipos han revelado de qué manera estos canales permiten el paso de agua pero excluyen el de iones y protones. En esencia, los poros son demasiado estrechos como para permitir el paso de iones. Los protones se excluyen por el hecho de que el átomo de oxígeno del agua se une a dos residuos asparagina que revisten el canal, lo que hace que el agua no esté disponible para participar en una retransmisión de H^+ y, de este modo, se impide la entrada de protones. Se ha mostrado que las mutaciones en el gen que codifica para AP-2 son la causa de un tipo de **diabetes insípida nefrogénica**. Peter Agre ganó un premio Nobel por su investigación acerca de la estructura y la función de acuaporinas.

LOS SISTEMAS DE TRANSPORTE ACTIVO REQUIEREN UNA FUENTE DE ENERGÍA

El proceso del transporte activo difiere de la difusión por cuanto las moléculas se transportan contra gradientes de concentración; por ende, **se necesita energía**. Esta energía puede provenir de la **hidrólisis de ATP**, del **movimiento de electrón**, o de la **luz**. El mantenimiento de gradientes electroquímicos en sistemas biológicos tiene tanta importancia que consume aproximadamente 30% del gasto de energía total en una célula.

Se han reconocido cuatro clases importantes de transportadores activos impulsados por ATP **(transportadores P**, **F**, **V y ABC)** (cuadro 40-6; la nomenclatura se explica en el pie del cuadro). El primer ejemplo de la clase P, la Na^+-K^+-ATPasa, se comenta a continuación. La **Ca**$^{2+}$ ATPasa del músculo se comenta en el capítulo 48. Se hace referencia a la segunda clase como tipo F. El ejemplo más importante de esta clase es la **mt ATP sintasa** (cap. 13). Los transportadores activos tipo V bombean protones hacia lisosomas y otras estructuras. Los transportadores ABC comprenden la **proteína CFTR**, un canal de cloruro incluido en el origen de la fibrosis quística (que se describe más adelante en este capítulo, y en el cap. 54).

CUADRO 40-6 Principales tipos de transportadores activos impulsados por ATP

Tipo	Ejemplo con ubicación subcelular
Tipo P	Ca^{2+} ATPasa (SR); Na^+-K^+-ATPasa (PM)
Tipo F	mt ATP sintasa de fosforilación oxidativa
Tipo V	La ATPasa que bombea protones hacia lisosomas y vesículas sinápticas
Transportador ABC	Proteína CFTR (PM); proteína MDR-1 (PM)

La P (en el tipo P) significa fosforilación (estas proteínas se autofosforilan).
La F (en el tipo F) significa factores acopladores de energía.
La V (en el tipo V) significa vacuolar.
ABC significa transportador de casete de unión a ATP (todos tienen dos dominios de unión a nucleótido y dos segmentos transmembrana).
SR, retículo sarcoplásmico de músculo; PM, membrana plasmática; mt, mitocondrial; CFTR, proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística, un transportador de Cl^-, y la proteína implicada en la causa de la fibrosis quística (véase más adelante en este capítulo, y el capítulo 54); proteína MDR-1 (proteína de resistencia a múltiples fármacos-1), proteína que bombea muchos agentes quimioterápicos hacia afuera de células cancerosas y, así, es un importante contribuidor a la resistencia de ciertas células cancerosas al tratamiento.

Otro miembro importante de esta clase es la **proteína de resistencia a múltiples fármacos-1** (proteína MDR-1). Este transportador bombeará diversos fármacos hacia afuera de las células, entre ellos muchos agentes anticáncer. Es una causa muy importante de resistencia de células cancerosas a quimioterapia, aunque también están implicados muchos otros mecanismos.

La Na^+-K^+-ATPasa de la membrana plasmática es una enzima clave en la regulación de las concentraciones intracelulares de Na^+ y K^+

En general, las células mantienen cifras intracelulares bajas de N^+ y altas de K^+ (cuadro 40-1), junto con un potencial eléctrico negativo neto dentro. La bomba que mantiene estos gradientes iónicos es una **ATPasa** que se activa por N^+ y K^+ (Na^+-K^+-ATPasa; fig. 40-18); bombea Na^+ hacia afuera de las células, y K^+ hacia adentro. La ATPasa es una proteína de membrana integral que contiene un dominio transmembrana que permite el paso de iones, y dominios citosólicos que acoplan la hidrólisis de ATP al transporte. Tiene centros catalíticos tanto para ATP como para Na^+ en el lado citoplásmico (interno) de la membrana plasmática (PM), con sitios de unión a K^+ localizados en el lado extracelular de la membrana. La fosforilación por ATP de tres sitios de unión a Na^+ en la superficie citoplásmica de la célula induce un cambio conformacional en la proteína, que conduce a transferencia de tres iones Na^+ desde el lado interno hacia el externo de la PM. Dos moléculas de K^+ se unen a sitios sobre la proteína sobre la superficie externa de la PM, lo que produce desfosforilación de la proteína y transferencia de los iones K^+ a través de la membrana hacia el interior. De esta manera, tres iones Na^+ se transportan hacia afuera por cada dos iones K^+ que entran. Esto crea un desequilibrio de carga entre el interior y el exterior de la célula, y hace más negativo al interior (un efecto **electrogénico**). La ouabaína o los digitálicos (dos medicamentos importantes que se usan en cardiología) inhiben esta ATPasa al unirse al dominio extracelular. Esta enzima puede consumir ~30% de la energía celular. La Na^+-K^+-ATPasa puede **acoplarse** a varios otros transportadores, como los que participan en el transporte de la glucosa (véase más adelante).

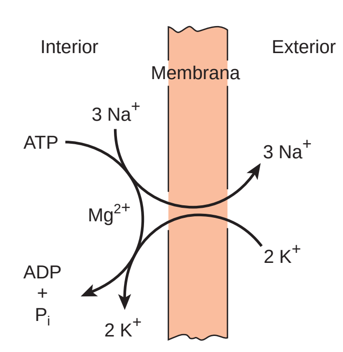


FIGURA 40-18 Estoiquiometría de la bomba de Na^+-K^+-ATPasa. Esta bomba mueve tres iones de NA^+ desde dentro de la célula hacia el exterior, y lleva dos iones de K^+ desde el exterior hacia el interior por cada molécula de ATP hidrolizada hacia ADP por la ATPasa asociada con membrana. La ouabaína y otros glucósidos cardiacos inhiben esta bomba al actuar sobre la superficie extracelular de la membrana. (Cortesía de R Post.)

LA TRANSMISIÓN DE IMPULSOS NERVIOSOS COMPRENDE CANALES DE ION Y BOMBAS

La membrana que encierra **células neuronales** mantiene una asimetría del voltaje interno-externo (potencial eléctrico) y es también excitable con electricidad debido a la presencia de canales activados por voltaje. Cuando se estimulan de modo apropiado mediante una señal química mediada por un receptor de membrana sináptica específico (véase la exposición sobre la transmisión de señales bioquímicas, más adelante), los canales en la membrana se abren para permitir el flujo rápido hacia adentro de Na^+ o Ca^{2+} (con o sin flujo de salida de K^+), de manera que la diferencia de voltaje se colapsa con rapidez y ese segmento de la membrana se despolariza. Aun así, como resultado de la acción de las bombas de ion en la membrana, el gradiente se restituye con rapidez.

Cuando áreas grandes de la membrana se **despolarizan** así, la alteración electroquímica se propaga en forma parecida a onda por la membrana, lo que genera un **impulso nervioso**. Las **láminas de mielina**, formadas por células de Schwann, envuelven a las fibras nerviosas y proporcionan un aislante eléctrico que rodea la mayor parte del nervio y acelera mucho la propagación de la onda (señal) al permitir que los iones fluyan hacia adentro y hacia afuera de la membrana únicamente donde esta última está libre del aislamiento (en los nódulos de Ranvier). La membrana de mielina tiene un alto contenido de lípido, lo que explica su excelente propiedad aislante. En la vaina de mielina se encuentran relativamente pocas proteínas; las que están presentes parecen mantener unidas múltiples bicapas de membrana para formar la estructura aislante hidrofóbica que es impermeable a iones y agua. **Ciertas enfermedades**, por ejemplo, esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré, se caracterizan por desmielinización y conducción nerviosa alterada.

EL TRANSPORTE DE GLUCOSA INCLUYE VARIOS MECANISMOS

Una exposición del **transporte de glucosa** resume muchos de los puntos descritos en este capítulo. Es necesario que la glucosa entre

en las células como el primer paso de la utilización de energía. Diversos transportadores de glucosa están involucrados, y varían en diferentes tejidos (cuadro 20-2). En **adipocitos y músculo esquelético**, la glucosa entra por medio de un sistema de transporte específico incrementado por la insulina. Los cambios en el transporte se deben principalmente a alteraciones de la $V_{máx}$ (probablemente por más o menos transportadores), pero quizá también estén involucrados cambios de la K_m. El transporte de glucosa **en el intestino delgado** comprende algunos aspectos diferentes de los principios de transporte antes comentados. La glucosa y el Na^+ se unen a diferentes sitios en un simportador de **Na^+-glucosa** localizado en la **superficie apical**. El Na^+ se mueve hacia la célula a favor de su gradiente electroquímico y "arrastra" glucosa con él (fig. 40-19). Por consiguiente, cuanto mayor es el gradiente de Na^+, más glucosa entra; y si el Na^+ en el líquido extracelular está bajo, el transporte de glucosa cesa. Para mantener un gradiente de Na^+ alto, este simportador de Na^+-glucosa depende de gradientes generados por la Na^+-K^+-ATPasa, que mantiene una concentración intracelular baja de Na^+. Se usan mecanismos similares para el transporte de **otros azúcares**, así como **aminoácidos** a través de la luz apical en células polarizadas como las que se encuentran en el intestino y los riñones. El movimiento transcelular de glucosa en este caso incluye un componente adicional: un uniporte (fig. 40-19) que permite que la glucosa acumulada dentro de la célula se mueva a través de la **membrana basolateral**, y comprende un **uniportador de glucosa** (GLUT2).

En el tratamiento de casos graves de **diarrea** (como en el cólera) se hace uso de la información anterior. En el **cólera** (cap. 54), pueden expulsarse cantidades masivas de líquido como heces acuosas en un tiempo muy breve, lo que ocasiona deshidratación grave, y posiblemente la muerte. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha creado la terapia de rehidratación por vía oral, que consta principalmente en NaCl y glucosa. El transporte de la glucosa y Na^+ a través del epitelio intestinal fuerza (mediante ósmosis) el movimiento de agua desde la luz del intestino hacia las células intestinales, lo que se traduce en rehidratación. La glucosa o el NaCl solos serían ineficaces.

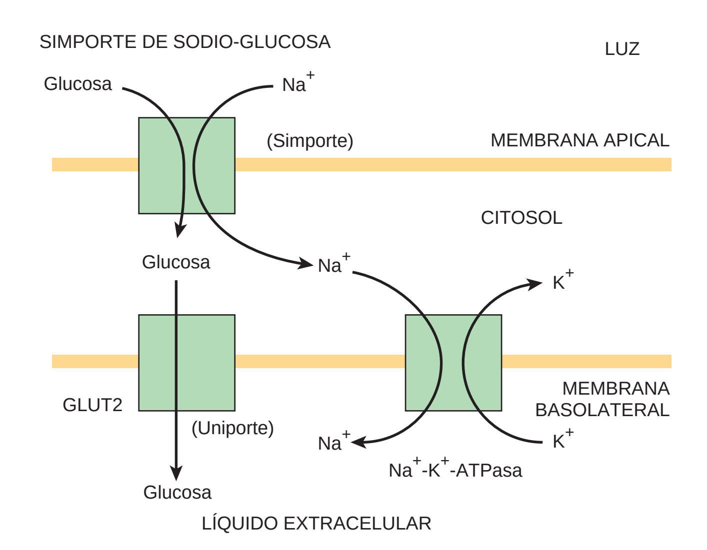


FIGURA 40-19 El movimiento transcelular de glucosa en una célula intestinal. La glucosa sigue al Na^+ a través de la membrana epitelial luminal. El gradiente de Na^+ que impulsa este simporte se establece por medio de intercambio de Na^+-K^+, que ocurre en la membrana basal que mira hacia el compartimiento de líquido extracelular mediante la acción de la Na^+-K^+-ATPasa. La glucosa a concentración alta dentro de la célula se mueve "cuesta abajo" hacia el líquido extracelular por medio de difusión facilitada (un mecanismo de uniporte), mediante GLUT2 (un transportador de glucosa, véase el cuadro 20-2). El simporte de sodio-glucosa en realidad acarrea 2 Na^+ por cada glucosa.

LAS CÉLULAS TRANSPORTAN CIERTAS MACROMOLÉCULAS A TRAVÉS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEDIO DE ENDOCITOSIS Y EXOCITOSIS

El proceso mediante el cual las células captan moléculas grandes se llama **endocitosis**. Algunas de estas moléculas (p. ej., polisacáridos, proteínas y polinucleótidos), cuando se hidrolizan dentro de la célula, **dan nutrientes**. La endocitosis también proporciona un mecanismo para **regular** el contenido de ciertos componentes de membrana; los receptores de hormona son un buen ejemplo. La endocitosis puede usarse para aprender más respecto a cómo funcionan las células. El DNA de un tipo de célula puede emplearse para llevar a cabo transfección hacia una célula diferente, y alterar la función o el fenotipo de esta última. En estos experimentos a menudo se emplea un gen específico, y esto proporciona un modo singular de estudiar y analizar la regulación de ese gen. La **transfección de DNA** depende de endocitosis; la entrada del DNA hacia la célula depende de endocitosis. En esos experimentos por lo general se usa fosfato de calcio, porque el Ca^{2+} estimula la endocitosis y precipita el DNA, lo que hace que el DNA sea un mejor objeto para endocitosis. Asimismo, las células **liberan macromoléculas** por medio de **exocitosis**. Tanto la endocitosis como la exocitosis incluyen formación de vesícula con o desde la membrana plasmática.

La endocitosis involucra ingestión de partes de la membrana plasmática

Casi todas las células eucarióticas están ingiriendo de manera continua partes de su membrana plasmática. Las vesículas endocitóticas se generan cuando segmentos de la membrana plasmática se invaginan, y encierran un pequeño volumen de líquido extracelular y su contenido. La vesícula a continuación se separa conforme la fusión de las membranas plasmáticas sella el cuello de la vesícula en el sitio de invaginación original (fig. 40-20). Esta vesícula se fusiona con otras estructuras de membrana y, de este modo, logra el transporte de su contenido hacia otros compartimientos celulares o incluso de regreso hacia el exterior de la célula. Casi todas las vesículas endocitóticas se fusionan con **lisosomas primarios** para formar **lisosomas secundarios**, que contienen enzimas hidrolíticas y, por tanto, son organelos especializados para la eliminación intracelular. El contenido macromolecular se digiere para dar aminoácidos, azúcares simples, o nucleótidos, y se transportan hacia afuera de las vesículas para que la célula los reutilice. La endocitosis requiere: 1) energía, por lo general proveniente de la hidrólisis de ATP; 2) Ca^{2+}, y 3) elementos contráctiles en la célula (probablemente el sistema de microfilamentos) (cap. 48).

Hay **dos** tipos generales de endocitosis. La **fagocitosis sólo sucede** en células especializadas, como los macrófagos y los granu-

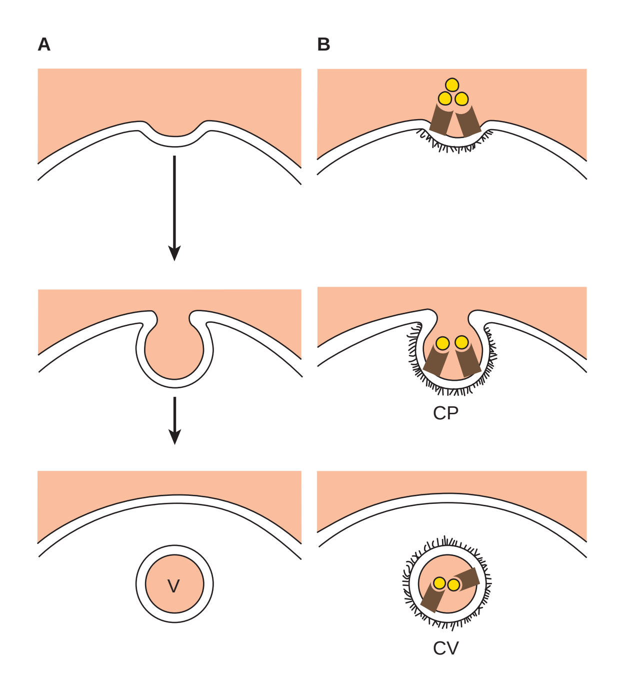


FIGURA 40-20 Dos tipos de endocitosis. Una vesícula endocitótica (V) se forma como resultado de invaginación de una porción de la membrana plasmática. La endocitosis de fase líquida **(A)** es al azar y no dirigida. La endocitosis mediada por receptor **(B)** es selectiva y sucede en hoyuelos cubiertos (CP) revestidos con la proteína clatrina (el material con pelusilla). El establecimiento de blanco es proporcionado por receptores (símbolos de color café) específicos para diversas moléculas. Esto origina la formación de una vesícula cubierta (CV).

locitos. La fagocitosis comprende la ingestión de partículas grandes, como virus, bacterias, células o restos. Los macrófagos son en extremo activos a este respecto, y pueden ingerir 25% de su volumen por hora. Al hacerlo, un macrófago puede internalizar 3% de su membrana plasmática cada minuto, o la membrana completa cada 30 minutos.

La **pinocitosis** es una propiedad de todas las células, y da pie a la captación celular de líquido y contenido de líquido. Hay **dos tipos**. La **pinocitosis de fase líquida** es un proceso no selectivo en el cual la captación de un soluto mediante la formación de vesículas pequeñas es simplemente proporcional a sus cifras en el líquido extracelular circundante. La formación de estas vesículas es un proceso en extremo activo. Los fibroblastos, por ejemplo, internalizan su membrana plasmática a alrededor de una tercera parte del índice de los macrófagos. Este proceso ocurre con mayor rapidez que la formación de membranas. El área de superficie y el volumen de una célula no cambian mucho, de manera que es necesario que las membranas se remplacen por medio de exocitosis o al reciclarse tan rápido como se eliminan mediante endocitosis.

El otro tipo de pinocitosis, la **pinocitosis absortiva**, es un proceso selectivo mediado por receptor que se encarga principalmente de la captación de macromoléculas para las cuales hay un número finito de sitios de unión en la membrana plasmática. Estos receptores de alta afinidad permiten la concentración selectiva de ligandos desde el medio, minimizan la captación de líquido o de macromoléculas no unidas solubles, y aumentan de modo notorio el índice al cual moléculas específicas entran en la célula. Las vesículas formadas en el transcurso de la pinocitosis absortiva se derivan de invaginaciones (hoyuelos) cubiertas en el lado citoplásmico con un material filamentoso, y que se denominan de manera apropiada **hoyuelos cubiertos**. En muchos sistemas, la proteína **clatrina** es el material filamentoso. Tiene una estructura de tres extremos (llamada un trisquelión); cada extremo está hecho de una cadena ligera y una pesada de clatrina. La polimerización de la clatrina hacia una vesícula es dirigida por **partículas de montaje**, compuestas de cuatro **proteínas adaptadoras**. Éstas interactúan con ciertas secuencias de aminoácidos en los receptores que se convierten en carga, lo que asegura la selectividad de la captación. El lípido **fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2)** (cap. 15) también tiene una función importante en el montaje de vesículas. Más aún, la proteína **dinamina**, que se une al GTP y lo hidroliza, se necesita para la separación de vesículas cubiertas con clatrina desde la superficie celular. Los hoyuelos cubiertos pueden constituir hasta 2% de la superficie de algunas células.

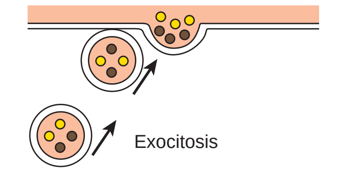
Como un ejemplo, la molécula de **lipoproteína de baja densidad** (LDL) y su **receptor** (cap. 25) se internalizan por medio de hoyuelos cubiertos que contienen el receptor de LDL. Estas vesículas endocitóticas que contienen LDL y su receptor se fusionan con lisosomas en la célula. El receptor se libera y se recicla de regreso hacia la membrana de superficie celular, pero la apoproteína de LDL se degrada y los colesteril ésteres se metabolizan. La síntesis del receptor de LDL está regulada mediante consecuencias secundarias o terciarias de pinocitosis, por ejemplo, por productos metabólicos —como el colesterol— liberados durante la degradación LDL. Los trastornos del receptor de LDL y su internalización tienen importancia médica y se comentan en los capítulos 25 y 26.

La pinocitosis absortiva de **glucoproteínas extracelulares** requiere que las glucoproteínas porten señales de reconocimiento de carbohidrato específicas. Estas señales de reconocimiento son unidas por moléculas receptoras de membrana, que tienen una función análoga a la del receptor de LDL. Un receptor galactosil sobre la superficie de hepatocitos es esencial en la pinocitosis absortiva de asialoglucoproteínas desde la circulación (cap. 47). Las hidrolasas ácidas captadas por medio de pinocitosis absortiva en fibroblastos son reconocidas mediante sus porciones manosa 6-fosfato. Es interesante que la porción manosa 6-fosfato también parece tener importancia en la dirección intracelular de las hidrolasas ácidas hacia los lisosomas de las células en las cuales se sintetizan (cap. 47).

Hay un **lado oscuro** para la endocitosis mediada por receptor, por cuanto los virus que dan por resultado enfermedades como la hepatitis (que afecta a las células del hígado), la poliomielitis (que afecta a neuronas motoras) y el SIDA (que afecta a células T) inician su daño por medio de este mecanismo. La toxicidad por hierro también empieza con captación excesiva debida a endocitosis.

La exocitosis libera ciertas macromoléculas desde las células

Casi todas las células **liberan** macromoléculas hacia el exterior mediante **exocitosis**. Asimismo, este proceso participa en el remodelado de membrana, cuando los componentes que se sintetizan en el aparato de Golgi se transportan en vesículas hacia la membrana plasmática. La señal para la exocitosis suele ser una hormona que, cuando se une a un receptor de superficie celular, induce un cambio local y transitorio de las cifras de Ca^{2+}. El **Ca^{2+}** desencadena exocitosis. En la figura 40-21 se comparan los mecanismos de exocitosis y endocitosis.



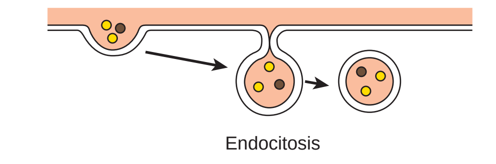


FIGURA 40-21 Una comparación de los mecanismos de endocitosis y exocitosis. La exocitosis comprende el contacto de dos monocapas de superficie interna (lado citoplásmico), mientras que la endocitosis se produce por el contacto de dos monocapas de superficie externa.

Las moléculas liberadas por medio de exocitosis tienen por lo menos **tres destinos**: 1) se pueden fijar a la superficie celular y convertir en proteínas periféricas, por ejemplo, antígenos; 2) pueden hacerse parte de la matriz extracelular, por ejemplo, colágeno y glucosaminoglucanos, o 3) pueden entrar en el líquido extracelular y emitir señales hacia otras células. La insulina, la hormona paratiroidea y las catecolaminas se empacan en gránulos y se procesan dentro de las células, para liberarse en el momento de estimulación apropiada.

DIVERSAS SEÑALES SE TRANSMITEN A TRAVÉS DE MEMBRANAS

Señales bioquímicas específicas, como neurotransmisores, hormonas e inmunoglobulinas, se unen a **receptores** específicos (proteínas integrales) expuestos al exterior de membranas celulares, y transmiten información a través de estas membranas hacia el citoplasma. Este proceso, denominado **emisión de señales transmembrana** (cap. 42), incluye la generación de varias moléculas emisoras de señales, entre ellas nucleótidos cíclicos, calcio, fosfoinositidas y diacilglicerol. Muchos de los pasos comprenden **fosforilación** de diversas moléculas.

LAS UNIONES INTERCELULARES COMUNICANTES PERMITEN EL FLUJO DIRECTO DE MOLÉCULAS DESDE UNA CÉLULA HACIA OTRA

Las uniones intercelulares comunicantes son estructuras que permiten **transferencia directa de moléculas pequeñas** (hasta ~1 200 Da) desde una célula hacia su vecina. Están compuestas de una familia de proteínas llamadas **conexinas** que forman una estructura hexagonal que consta de 12 de esas proteínas. Seis conexinas forman un hemicanal de conexina y se unen a una estructura similar en una célula vecina para hacer un canal conexón completo (fig. 40-22). Una unión intercelular comunicante contiene varios conexones. Diferentes conexinas se encuentran en diferentes tejidos. Se ha hallado que las **mutaciones** en los genes que codifican para conexinas muestran vínculo con diversas enfermedades, entre ellas anormalidades cardiovasculares, un tipo de sordera, y la forma ligada a X de la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (un trastorno neurológico desmielinizante).

LAS MUTACIONES QUE AFECTAN PROTEÍNAS DE MEMBRANA ORIGINAN ENFERMEDADES

En vista del hecho de que las membranas están localizadas en tantos organelos, y participan en tantos procesos, no sorprende que las **mutaciones** que afectan sus constituyentes proteínicos deban causar muchas enfermedades o trastornos. Las proteínas en membranas pueden clasificarse como **receptores**, **transportadores**, **canales de ion**, **enzimas** y **componentes estructurales**. Los miembros de todas estas clases a menudo están **glucosilados**, de modo que las mutaciones que afectan este proceso pueden alterar su función. En el cuadro 40-7 se listan los ejemplos de enfermedades o trastornos debidos a anormalidades de las proteínas de membrana; éstos reflejan principalmente mutaciones en proteínas de la **membrana plasmática**; una afecta la función lisosómica (enfermedad de célula I). Muchas enfermedades o trastornos genéticos se han atribuido a mutaciones que afectan diversas proteínas involucradas en el transporte de aminoácidos, azúcares, lípidos, urato, aniones, cationes, agua y vitaminas a través de la **membrana plasmática**. Las mutaciones en genes que codifican para proteínas en **otras membranas** también pueden tener consecuencias perjudiciales. Por ejemplo, las mutaciones en genes que codifican para **proteínas de membrana mitocondrial** involucradas en la fosforilación oxidativa pueden suscitar problemas neurológicos y de otros tipos (p. ej., neuropatía óptica hereditaria de Leber; LHON, **una enfermedad en la cual en 2008 se reportó cierto éxito con la terapia génica)**. Las proteínas de membrana también pueden quedar afectadas por enfermedades que no son mutaciones. La formación de **autoanticuerpos** contra el receptor de acetilcolina en el músculo esquelético produce miastenia grave. La **isquemia** puede afectar con rapidez la integridad

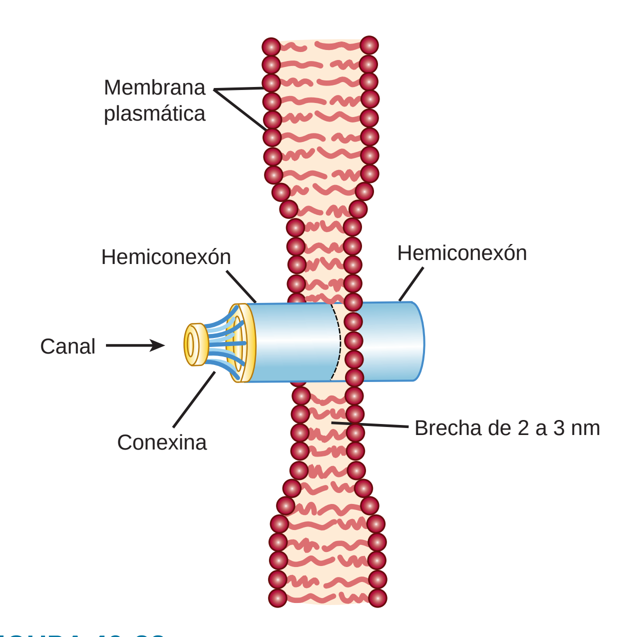


FIGURA 40-22 Diagrama esquemático de una unión intercelular comunicante o conexión comunicante. Un conexón se hace a partir de dos hemiconexones. Cada hemiconexón está hecho de seis moléculas de conexina. Los solutos pequeños tienen la capacidad para difundirse a través del canal central, lo que proporciona un mecanismo directo de comunicación entre una célula y otra.

CUADRO 40-7 Algunas enfermedades o estados patológicos originados por, o atribuidos a, anormalidades de membranas[1]

Enfermedad	Anormalidad
Acondroplasia (OMIM 100800)	Mutaciones en el gen que codifica para el receptor de factor de crecimiento de fibroblasto 3
Hipercolesterolemia familiar (OMIM 143890)	Mutaciones en el gen que codifica para el receptor de LDL
Fibrosis quística (OMIM 219700)	Mutaciones en el gen que codifica para la proteína CFTR, un transportador de Cl^-
Síndrome de QT largo congénito (OMIM 192500)	Mutaciones de genes que codifican para canales de ion en el corazón
Enfermedad de Wilson (OMIM 277900)	Mutaciones en el gen que codifica para una ATPasa dependiente de cobre
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	Mutaciones en el gen que codifica para GlcNAc fosfotransferasa, que dan por resultado falta de la señal Man 6-P para la ubicación lisosómica de ciertas hidrolasas
Esferocitosis hereditaria (OMIM 182900)	Mutaciones en los genes que codifican para espectrina u otras proteínas estructurales en la membrana de eritrocitos
Metástasis de células cancerosas	Se cree que las anormalidades en las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas y glucolípidos de membrana son de importancia
Hemoglobinuria paroxística nocturna (OMIM 311770)	Mutación que da por resultado fijación deficiente del ancla GPI (cap. 47) a ciertas proteínas de la membrana del eritrocito

[1]Los trastornos listados se comentan más en otros capítulos. En el cuadro se listan ejemplos de mutaciones que afectan dos receptores, un transportador, varios canales de ion (esto es, síndrome de QT largo congénito), dos enzimas, y una proteína estructural. También se presentan ejemplos de glucosilación alterada o defectuosa de glucoproteínas. Casi todas las enfermedades listadas afectan la membrana plasmática.

de diversos canales de iones en membranas. Las anormalidades de constituyentes de membrana que no son proteínas también pueden ser perjudiciales. En lo que se refiere a los **lípidos**, el exceso de colesterol (p. ej., en la hipercolesterolemia familiar), de lisofosfolípido (p. ej., después de mordeduras por ciertas serpientes, cuyo veneno contiene fosfolipasas), o de glicoesfingolípidos (p. ej., en una esfingolipidosis), puede afectar la función de membrana.

La fibrosis quística (CF) se debe a mutaciones en el gen que codifica para CFTR, un transportador de cloruro

La CF es un trastorno genético **recesivo** prevaleciente entre sujetos de raza blanca en la parte no latina de América, y en ciertas zonas del norte de Europa. Se caracteriza por infecciones bacterianas crónicas de las vías respiratorias y los senos paranasales, digestión inadecuada de grasa debida a insuficiencia exocrina pancreática, esterilidad en varones debida a desarrollo anormal del conducto deferente, y **concentraciones altas de cloruro en el sudor** (> 60 mmol/L). En 1989 se mostró que las mutaciones en un gen que codifica para una proteína denominada **proteína reguladora transmembrana de fibrosis quística (CFTR)** eran la causa de la CF. La CFTR es un **transportador de Cl^- regulado por AMP cíclico**. En el capítulo 54 se presentan las principales características clínicas de la CF, e información adicional en cuanto al gen del cual depende la CF, y acerca de la CFTR.

RESUMEN

- Las membranas son estructuras complejas compuestas de moléculas que contienen lípidos, proteínas y carbohidrato.
- La estructura básica de todas las membranas es la bicapa lipídica. Esta bicapa está formada de dos hojas de fosfolípidos en las cuales los grupos de la cabeza polar hidrofílica se dirigen en dirección contraria uno del otro, y se exponen al ambiente acuoso en las superficies externa e interna de la membrana. Las colas no polares hidrofóbicas de estas moléculas están orientadas una hacia otra, hacia el centro de la membrana.
- Las membranas son estructuras dinámicas. Los lípidos y ciertas proteínas muestran difusión lateral rápida. El "flip-flop" es muy lento para lípidos, e inexistente para proteínas.
- El modelo del mosaico fluido forma una base útil para pensar respecto a la estructura de la membrana.
- Las proteínas de membrana se clasifican como integrales si están firmemente embebidas en la bicapa, y como periféricas si están fijas a la superficie externa o interna.
- Las aproximadamente 20 membranas en una célula de mamífero tienen diferentes funciones y definen compartimientos, o ambientes especializados, dentro de la célula, que tienen funciones específicas (p. ej., lisosomas).
- Ciertas moléculas hidrofóbicas se difunden libremente a través de las membranas, pero el movimiento de otras está restringido debido a su tamaño o carga.
- Diversos mecanismos pasivos y activos (por lo general dependientes de ATP) se emplean para mantener gradientes de esas moléculas a través de diferentes membranas.
- Ciertos solutos, por ejemplo, glucosa, entran a las células mediante difusión facilitada a lo largo de un gradiente descendente desde concentración alta hacia baja usando proteínas acarreadoras específicas (transportadores).
- Las principales bombas impulsadas por ATP se clasifican como transportadores P (fosforilados), F (factores de energía), V (vacuolar) y ABC. Los miembros de estas clases son la Na^+-K^+-ATPasa, la Ca^{2+} ATPasa del retículo sarcoplásmico, la mt ATP sintasa, los lisosomas acidificadores de ATPasa, la proteína CFTR, y la proteína MDR-1.
- Los canales de iones activados por ligando o voltaje suelen usarse para mover moléculas cargadas (Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc.) a través de membranas.
- Las moléculas grandes pueden entrar o salir de las células por medio de mecanismos como endocitosis o exocitosis. Estos procesos a menudo necesitan unión de la molécula a un receptor, lo que proporciona especificidad al proceso.
- Los receptores pueden ser componentes integrales de membranas (en especial de la membrana plasmática). La interacción de un ligando con su receptor puede no incluir el movimiento de uno u otro hacia la célula, sino que la interacción ocasiona la generación de una señal que influye sobre procesos intracelulares (emisión de señales transmembrana).

- Las mutaciones que afectan la estructura de proteínas de membrana (receptores, transportadores, canales de ion, enzimas y proteínas estructurales) pueden traducirse en enfermedades; los ejemplos son brosis quística e hipercolesterolemia familiar.

REFERENCIAS

Alberts B et al: *Molecular Biology of the Cell.* 5th ed. Garland Science, 2008.
Clapham DE: Symmetry, selectivity and the 2003 Nobel Prize. Cell 2003;115:641.
Holland IB et al: *ABC Proteins: From Bacteria to Man.* Academic Press/ Elsevier Science, 2003.
Le Roy C, Wrana JL: Clathrin- and non-clathrin-mediated endocytic regulation of cell signaling. Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6:112.
Lodish H et al: *Molecular Cell Biology.* 6th ed. WH Freeman & Co, 2008.
Longo N: Inherited defects of membrane transport. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17th ed. Fauci AS et al (editors). Chapter 359. McGraw-Hill, 2008.
Lucero HA, Robbins PW: Lipid rafts: protein association and the regulation of protein activity. Arch Biochem Biophys 2004;426:208.
Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology.* 2nd ed. Saunders Elsevier, 2008.
Singer SJ: Some early history of membrane molecular biology. Annu Rev Physiol 2004;66:1.
Vance DE, Vance J (editors): *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes.* 5th ed. Elsevier, 2008.
Yeagle PL: *The Structure of Biological Membranes.* 2nd ed. CRC Press, 2004.

CAPÍTULO

41

La diversidad del sistema endocrino

P. Anthony Weil, PhD

ACTH	hormona adrenocorticotrópica	**GH**	hormona de crecimiento
ANF	factor natriurético auricular	**IGF-1**	factor de crecimiento parecido a la insulina-1
cAMP	monofosfato de adenosina cíclico	**LH**	hormona luteotrópica
CBG	globulina de unión a corticosteroide	**LPH**	lipotropina
CG	gonadotropina coriónica	**MIT**	monoyodotirosina
cGMP	monofosfato de guanosina cíclico	**MSH**	hormona estimulante de melanocitos
CLIP	péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina	**OHSD**	hidroxiesteroide deshidrogenasa
		PNMT	feniletanolamina-*N*-metiltransferasa
DBH	dopamina β-hidroxilasa	**POMC**	pro-opiomelanocortina
DHEA	dehidroepiandrosterona	**SHBG**	globulina de unión a hormona sexual
DHT	dihidrotestosterona	**StAR**	(proteína) reguladora aguda esteroidogénica
DIT	diyodotirosina	**TBG**	globulina de unión a tiroxina
DOC	desoxicorticosterona	**TEBG**	globulina de unión a testosterona-estrógeno
EGF	factor de crecimiento epidérmico	**TRH**	hormona liberadora de tirotropina
FSH	hormona estimulante del folículo	**TSH**	hormona estimulante de la tiroides

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La supervivencia de los organismos multicelulares depende de su capacidad para adaptarse a un ambiente en cambio constante. Los mecanismos de comunicación intercelular son necesarios para esta adaptación. Los sistemas nervioso y endocrino proporcionan la comunicación intercelular en el organismo. En un inicio se consideró que el sistema nervioso proporcionaba un sistema de comunicación fijo, mientras que el endocrino proveía hormonas, que son mensajes móviles; en realidad, hay una notoria convergencia de estos sistemas reguladores. Por ejemplo, la regulación neural del sistema endocrino es importante en la producción y secreción de algunas hormonas; muchos neurotransmisores semejan hormonas en su síntesis, transporte y mecanismo de acción, y muchas hormonas se sintetizan en el sistema nervioso. La palabra "hormona" se deriva de un término griego que significa "despertar a la actividad"; como se define clásicamente, una hormona es una sustancia que se sintetiza en un órgano y el sistema circulatorio la transporta para que actúe sobre otro tejido. Sin embargo, esta descripción original es demasiado restrictiva porque las hormonas pueden actuar sobre células adyacentes (acción paracrina) y sobre la célula en la cual se sintetizaron (acción autocrina) sin entrar en la circulación sistémica. Una diversa gama de hormonas —cada una con mecanismos de acción y propiedades de biosíntesis, almacenamiento, secreción, transporte y metabolismo distintivos— ha evolucionado para proporcionar respuestas homeostáticas. Esta diversidad bioquímica es el tema de este capítulo.

EL CONCEPTO DE CÉLULA BLANCO

Hay alrededor de 200 tipos de células diferenciadas en los seres humanos. Sólo algunas producen hormonas, pero la mayor parte de los 75 billones de células en un ser humano son blancos para una o más de las más de 50 hormonas conocidas. El concepto de la célula blanco es un modo útil de analizar la acción hormonal. Se creía que las hormonas afectaban a un solo tipo de célula —o tan sólo a algunos tipos de células— y que una hormona desencadenaba una acción bioquímica o fisiológica singular. Ahora se sabe que una hormona dada puede afectar diferentes tipos de células, que más de una hormona puede afectar a un tipo dado de célula, y que las hormonas pueden ejercer muchos efectos distintos en una célula o en diferentes células. Con el descubrimiento de receptores hormonales de superficie celular e intracelulares específicos, la definición de un blanco se ha expandido para incluir cualquier célula en la cual la hormona (ligando) se une a su receptor, se haya determinado o no una respuesta bioquímica o fisiológica.

Varios factores determinan la respuesta de una célula blanco a una hormona, mismos que se consideran de una de dos maneras generales: 1) como factores que afectan la concentración de la hor-

CUADRO 41-1 Determinantes de la concentración de una hormona en la célula blanco

El índice de síntesis y secreción de las hormonas.
La proximidad de la célula blanco a la fuente de hormona (efecto de dilución).
Las constantes de disociación de la hormona con proteínas de transporte en el plasma específicas (si hay alguna).
La conversión de formas inactivas o con actividad menos que óptima de la hormona hacia la forma por completo activa.
El índice de depuración desde el plasma por otros tejidos o por digestión, metabolismo o excreción.

CUADRO 41-2 Determinantes de la respuesta de la célula blanco

El número, la actividad relativa, y el estado de ocupación de los receptores específicos sobre la membrana plasmática o en el citoplasma o el núcleo.
El metabolismo (activación o desactivación) de la hormona en la célula blanco.
La presencia de otros factores dentro de la célula necesarios para la respuesta de la hormona.
Una regulación ascendente o descendente del receptor consiguiente a la interacción con el ligando.
Desensibilización de la célula después de receptor, incluso regulación descendente del receptor.

mona en la célula blanco (cuadro 41-1), y 2) como factores que afectan la respuesta real de la célula blanco a la hormona (cuadro 41-2).

LOS RECEPTORES HORMONALES TIENEN IMPORTANCIA FUNDAMENTAL

Los receptores discriminan con precisión

La figura 41-1 ilustra uno de los principales desafíos que se enfrentan para hacer que funcione el sistema de comunicación basado en hormona. Las hormonas están presentes a cifras muy bajas en el líquido extracelular, por lo general en el rango atomolar a nanomolar (10^{-15} a 10^{-9} mol/L). Esta concentración es mucho menor que la de las muchas moléculas que tienen estructura similar (esteroles, aminoácidos, péptidos, proteínas) y otras moléculas que circulan a concentraciones dentro del rango micromolar a milimolar (10^{-6} a 10^{-3}) mol/L. En consecuencia, las células blanco deben distinguir no sólo entre diferentes hormonas presentes en pequeñas cantidades, sino también entre una hormona dada y el exceso de 10^6 a 10^9 veces de otras moléculas similares. Este alto grado de discriminación es proporcionado por moléculas de reconocimiento asociadas a células denominadas receptores. Las hormonas inician sus efectos biológicos al unirse a receptores específicos, y dado que cualquier sistema de control eficaz también debe proporcionar un medio de suspender una respuesta, las acciones inducidas por hormonas regularmente terminan cuando el efector se disocia del receptor (fig. 38-1).

Una célula blanco se define por su capacidad para unir de modo selectivo una hormona dada a su receptor cognado. Varias características bioquímicas de esta interacción tienen importancia para que las interacciones entre hormona y receptor sean significativas desde el punto de vista fisiológico: 1) la unión debe ser específica, es decir, desplazable por agonista o antagonista; 2) la unión debe ser saturable, y 3) la unión debe ocurrir dentro del rango de concentración de la respuesta biológica esperada.

Los receptores tienen dominios tanto de reconocimiento como de acoplamiento

Todos los receptores tienen al menos dos dominios funcionales. Un dominio de reconocimiento se une al ligando hormonal, y una segunda región genera una señal que acopla el reconocimiento hormonal a alguna función intracelular. El acoplamiento (transducción de señal) sucede de dos maneras generales. Las hormonas polipeptídicas y proteínicas y las catecolaminas se unen a receptores localizados en la membrana plasmática y, así, generan una señal que regula diversas funciones intracelulares, a menudo al cambiar la actividad de una enzima. En contraste, las hormonas esteroides, retinoides y tiroideas interactúan con receptores intracelulares, y es este complejo de ligando-receptor lo que proporciona de modo directo la señal, por lo general hacia genes específicos cuyo índice de transcripción queda afectado por ello.

En los receptores de hormona polipéptido proteína y catecolamina se han identificado los dominios que se encargan del reconocimiento de hormona y de la generación de señal. Los receptores de hormona esteroide, tiroidea y retinoide tienen varios dominios funcionales: un sitio se une a la hormona; otro se une a regiones de DNA específicas; un tercero participa en la interacción con otras proteínas correguladoras que dan por resultado la activación (o represión) de la transcripción de gen, y un cuarto puede especificar unión a una o más otras proteínas que influyen sobre el tráfico intracelular del receptor.

Las funciones dobles de unión y acoplamiento finalmente definen un receptor, y es el acoplamiento de la unión a hormona a transducción de señal —el llamado **acoplamiento receptor-efector**— lo que proporciona el primer paso en la amplificación de la respuesta hormonal. Asimismo, este propósito doble distingue entre el receptor de célula blanco y las proteínas acarreadoras plasmáticas que se unen a la hormona pero que no generan una señal (cuadro 41-6).

Los receptores son proteínas

Han sido identificadas varias clases de receptores de hormonas peptídicas. Por ejemplo, el receptor de insulina es un heterotetrámero compuesto de dos copias de dos subunidades proteínicas diferentes ($\alpha_2\beta_2$) unidas por múltiples enlaces disulfuro en los cuales la subunidad α extracelular se une a la insulina, y la subunidad β que abarca la membrana transduce la señal por medio del dominio de tirosina proteína cinasa localizado en la parte citoplásmica de este polipéptido. Los receptores para el factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-1) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) por lo general tienen estructura similar a la del receptor de insulina. Los receptores de hormona de crecimiento (GH) y prolactina

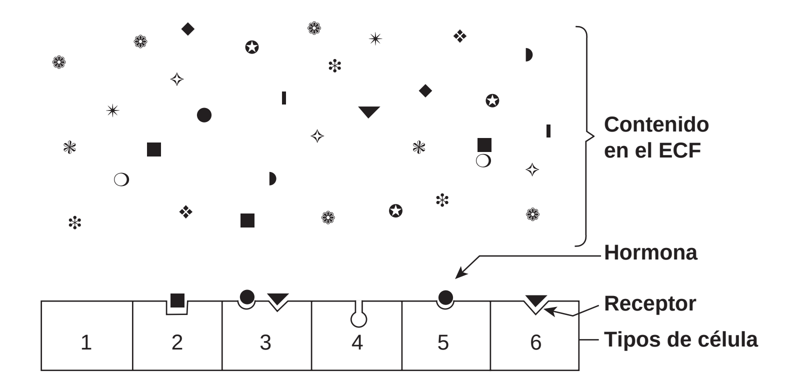


FIGURA 41-1 Especificidad y selectividad de receptores de hormona. Muchas moléculas diferentes circulan en el líquido extracelular (ECF), pero sólo algunas son reconocidas por receptores de hormona. Los receptores deben seleccionar estas moléculas de entre concentraciones altas de las otras moléculas. Este dibujo simplificado muestra que una célula puede carecer de receptores de hormona (1), tener un receptor (2+5+6), tener receptores para varias hormonas (3), o tener un receptor pero carecer de hormona en la vecindad (4).

también abarcan la membrana plasmática de células blanco pero no contienen actividad de proteína cinasa intrínseca. Empero, la unión de ligando a estos receptores origina la asociación y activación de una vía de emisión de señales proteína cinasa por completo diferente, la vía de Jak-Stat. Los receptores de hormona polipeptídica y catecolamina, que transducen señales al alterar el índice de producción de cAMP mediante proteínas G, se caracterizan por la presencia de siete dominios que abarcan la membrana plasmática. La activación de la proteína cinasa y la generación de AMP cíclico (cAMP, ácido 3′5′-adenílico; fig. 19-5) es una acción corriente abajo de esta clase de receptor (cap. 42).

Una comparación de varios receptores de esteroide diferentes con los receptores de hormona tiroidea reveló una notoria conservación de la secuencia de aminoácidos en ciertas regiones, especialmente en los dominios de unión a DNA. Esto condujo a percatarse de que los receptores del tipo esteroide o tiroideos son miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares. Muchos miembros relacionados de esta familia en la actualidad no tienen ligando conocido y, de esta manera, se denominan receptores huérfanos. La superfamilia de receptores nucleares tiene una función crucial en la regulación de la transcripción de gen por hormonas (cap. 42).

LAS HORMONAS PUEDEN CLASIFICARSE DE VARIOS MODOS

Las hormonas pueden clasificarse de acuerdo con la composición química, las propiedades de solubilidad, la localización de receptores, y la naturaleza de la señal usada para mediar acción hormonal dentro de la célula. El cuadro 41-3 ilustra una clasificación basada en las dos últimas propiedades, y el cuadro 41-4 expone las características generales de cada grupo.

Las hormonas en el grupo I son lipofílicas. Después de la secreción, estas hormonas se asocian con proteínas de transporte en el plasma o acarreadoras, proceso que sortea el problema de solubilidad mientras que prolonga la vida media plasmática de la hormona. Los porcentajes relativos de hormona unida y libre están determinados por la cantidad, la afinidad de unión y la capacidad de unión de la proteína de transporte. La hormona libre, que es la forma que tiene actividad biológica, cruza con facilidad la membrana plasmática lipofílica de todas las células, y encuentra receptores en el citosol o en el núcleo de células blanco. El complejo de ligando-receptor se supone que es el mensajero intracelular en este grupo.

El segundo grupo importante consta de hormonas hidrosolubles que se unen a la membrana plasmática de la célula blanco. Las hormonas que se unen a las superficies de células se comunican con procesos metabólicos intracelulares por medio de moléculas intermediarias llamadas **segundos mensajeros** (la hormona en sí es el primer mensajero), que se generan como consecuencia de la interacción entre ligando y receptor. El concepto de segundo mensajero surgió a partir de una observación de que la adrenalina se une a la membrana plasmática de ciertas células y aumenta el cAMP intracelular. Esto fue seguido por una serie de experimentos en los cuales se encontró que el cAMP media los efectos de muchas hormonas. Las hormonas que emplean claramente este mecanismo se muestran en el grupo II.A del cuadro 41-3. El factor natriurético auricular (ANF) usa cGMP como su segundo mensajero (grupo II.B). Varias hormonas, muchas de las cuales en el pasado se creía que afectaban el cAMP, parecen usar calcio iónico (Ca^{2+}) o metabolitos de fosfoinositidas complejas (o ambos) como la señal intracelular; éstas se muestran en el grupo II.C del cuadro. El mensajero intracelular para el grupo II.D es una cascada de proteína cinasa-fosfatasa. Varios de éstos se han identificado, y una hormona dada puede emplear más de una cascada de cinasa. Algunas hormonas caen dentro de más de una categoría, y las asignaciones cambian conforme se presenta más información.

DIVERSIDAD DEL SISTEMA ENDOCRINO

Las hormonas se sintetizan en diversos arreglos celulares

Las hormonas se sintetizan en órganos separados designados sólo para este propósito específico, como la tiroides (triyodotironina), las suprarrenales (glucocorticoides y mineralocorticoides), y la hipófisis (TSH, FSH, LH, GH, prolactina, ACTH). Algunos órganos están diseñados para desempeñar dos funciones distintas pero estrechamente relacionadas. Por ejemplo, los ovarios producen oocitos maduros y las hormonas de la reproducción, estradiol y progesterona. Los testículos producen espermatozoides maduros y testosterona. Las hormonas también se producen en células especializadas dentro de otros órganos, como el intestino delgado (péptido parecido a glucagon), la tiroides (calcitonina) y los riñones (angiotensina II). Finalmente, la síntesis de algunas hormonas requiere las

CUADRO 41-3 Clasificación de las hormonas por mecanismo de acción

I. Hormonas que se unen a receptores intracelulares
Andrógenos
Calcitriol (1,25[OH]$_2$-D$_3$)
Estrógenos
Glucocorticoides
Mineralocorticoides
Progestinas
Ácido retinoico
Hormonas tiroideas (T$_3$ y T$_4$)
II. Hormonas que se unen a receptores de super cie celular
A. El segundo mensajero es cAMP
Catecolaminas α_2-adrenérgicas
Catecolaminas β-adrenérgicas
Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)
Hormona antidiurética
Calcitonina
Gonadotropina coriónica humana (CG)
Hormona liberadora de corticotropina
Hormona estimulante del folículo (FSH)
Glucagon
Lipotropina (LPH)
Hormona luteinizante (LH)
Hormona estimulante de melanocitos (MSH)
Hormona paratiroidea (PTH)
Somatostatina
Hormona estimulante de la tiroides (TSH)
B. El segundo mensajero es cGMP
Factor natriurético auricular
Óxido nítrico
C. El segundo mensajero es calcio o fosfatidilinositoles (o ambos)
Acetilcolina (muscarínica)
Catecolaminas α_1-adrenérgicas
Angiotensina II
Hormona antidiurética (vasopresina)
Colecistocinina
Gastrina
Hormona liberadora de gonadotropina
Oxitocina
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)
Sustancia P
Hormona liberadora de tirotropina (TRH)
D. El segundo mensajero es una cascada de cinasa o fosfatasa
Adiponectina
Somatomamotropina coriónica
Factor de crecimiento epidérmico
Eritropoyetina
Factor de crecimiento de broblastos (FGF)
Hormona de crecimiento (GH)
Insulina
Factores de crecimiento parecidos a la insulina 1 y 2
Leptina
Factor de crecimiento de nervios (NGF)
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
Prolactina

células parenquimatosas de más de un órgano; p. ej., la piel, el hígado y los riñones se necesitan para la producción de 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (calcitriol). A continuación se comentan los ejemplos de esta diversidad en el método para la síntesis de hormona, cada uno de los cuales ha evolucionado para satisfacer un propósito específico.

CUADRO 41-4 Características generales de las clases de hormona

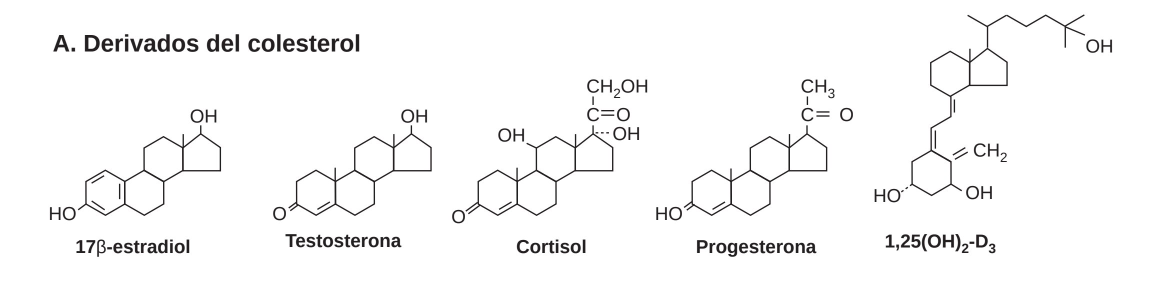
	Grupo I	Grupo II
Tipos	Esteroides, yodotironinas, calcitriol, retinoides	Polipéptidos, proteínas, glucoproteínas, catecolaminas
Solubilidad	Lipofílico	Hidrofílicos
Proteínas de transporte	Sí	No
Vida media en el plasma	Prolongada (horas a días)	Breve (minutos)
Receptor	Intracelular	Membrana plasmática
Mediador	Complejo de receptor-hormona	cAMP, cGMP, Ca^{2+}, metabolitos de fosfoinositoles complejos, cascadas de cinasa

Las hormonas son diversas en el aspecto químico

Las hormonas se sintetizan a partir de una amplia variedad de bloques de construcción químicos. Una serie grande se deriva del colesterol. Éstas incluyen los glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos, progestinas y 1,25(OH)$_2$-D$_3$ (fig. 41-2). En algunos casos, una hormona esteroide es la molécula precursora para otra hormona. Por ejemplo, la progesterona es una hormona por derecho propio, pero también es un precursor en la formación de glucocorticoides, mineralocorticoides, testosterona y estrógenos. La testosterona es un intermediario obligatorio en la biosíntesis de estradiol y en la formación de dihidrotestosterona (DHT). En estos ejemplos, que se describen con detalle más adelante, el producto final está determinado por el tipo de célula y por el juego de enzimas asociado en el cual existe el precursor.

El aminoácido tirosina es el punto de inicio en la síntesis de las catecolaminas y de las hormonas tiroideas tetrayodotironina (tiroxina; T$_4$) y triyodotironina (T$_3$) (fig. 41-2). La T$_3$ y T$_4$ son singulares por cuanto requieren la adición de yodo (como I^-) para tener bioactividad. Puesto que el yodo en la dieta es muy escaso en muchas partes del mundo, se ha adquirido por evolución un mecanismo intrincado para acumular y retener I^-.

Muchas hormonas son polipéptidos o glucoproteínas, las cuales varían de tamaño desde la hormona liberadora de tirotropina (TRH), un tripéptido, hasta polipéptidos de cadena única como la hormona adrenocorticotrópica (ACTH; 39 aminoácidos), hormona paratiroidea (PTH; 84 aminoácidos) y GH (191 aminoácidos) (fig. 41-2). La insulina es un heterodímero de cadena AB de 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. La hormona estimulante del folículo (FSH), hormona luteinizante (LH), hormona estimulante de la tiroides (TSH), y gonadotropina coriónica (CG) son hormonas glucoproteínicas de estructura heterodimérica αβ. La cadena α es idéntica en todas estas hormonas, y las cadenas β distintas imparten la singularidad hormonal. Estas hormonas tienen una masa molecular



B. Derivados de la tirosina

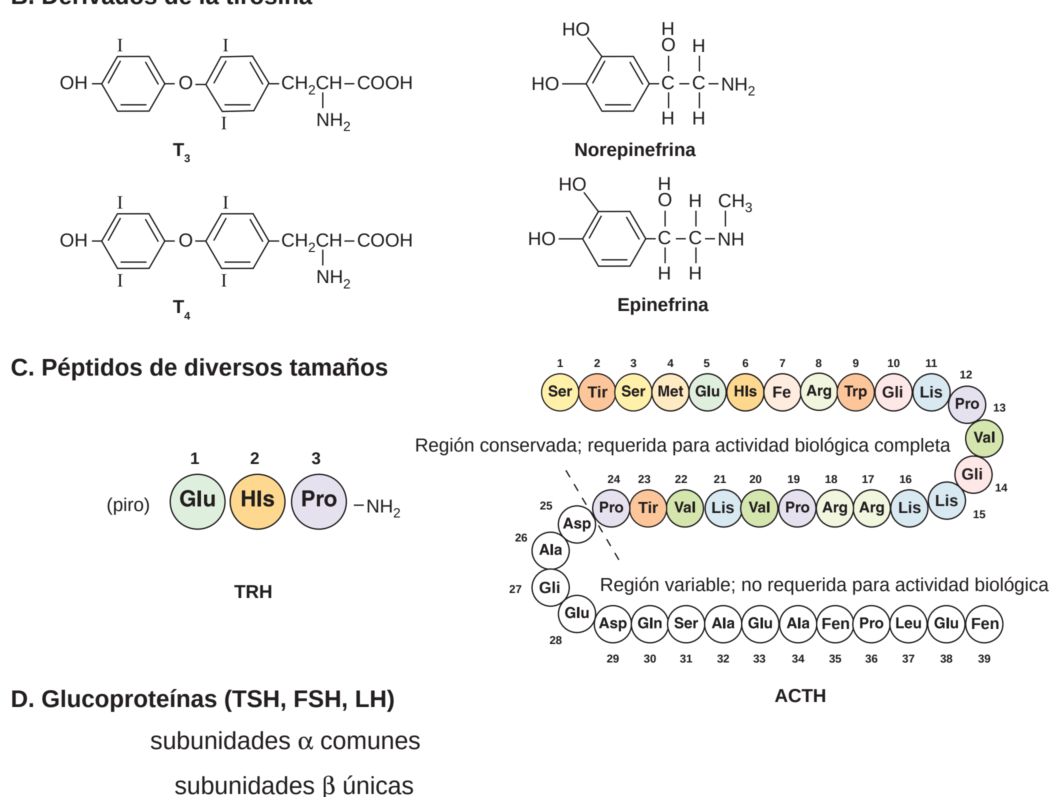


FIGURA 41-2 Diversidad química de las hormonas. **(A)** Derivados del colesterol. **(B)** Derivados de la tirosina. **(C)** Péptidos de diversos tamaños. **(D)** Glucoproteínas (TSH, FSH, LH) con subunidades α comunes y subunidades β únicas.

dentro del rango de 25 a 30 kDa dependiendo del grado de glucosilación y de la longitud de la cadena β.

Las hormonas se sintetizan y modifican de diversas maneras para tener actividad completa

Algunas hormonas se sintetizan en forma final y se secretan de inmediato. Esta clase comprende las hormonas derivadas del colesterol. Otras, como las catecolaminas, se sintetizan en forma final y se almacenan en las células productoras. Otras, como la insulina, se sintetizan a partir de moléculas precursoras en la célula productora, y luego se procesan y secretan en presencia de un indicio fisiológico (cifras de glucosa en plasma). Por último, aún otras se convierten en formas activas a partir de moléculas precursoras en la periferia (T_3 y DHT). Todos estos ejemplos se comentan con mayor detalle a continuación.

MUCHAS HORMONAS SE SINTETIZAN A PARTIR DEL COLESTEROL

Esteroidogénesis suprarrenal

Las hormonas esteroides suprarrenales se sintetizan a partir del colesterol, el cual se deriva en su mayor parte del plasma, pero una pequeña porción se sintetiza *in situ* a partir de la acetil-CoA mediante mevalonato y escualeno. Gran parte del colesterol en las suprarrenales se esterifica y almacena en gotitas de lípido citoplásmicas. En el momento de estimulación de las suprarrenales por la ACTH, se activa una esterasa, y el colesterol libre que se forma se

transporta hacia la mitocondria, donde una **enzima de división de cadena lateral citocromo P450 (P450scc)** convierte el colesterol en pregnenolona. La división de la cadena lateral comprende hidroxilaciones secuenciales, primero en C_{22} y después en C_{20}, seguidas por la división de cadena lateral (eliminación del fragmento de seis carbonos isocaproaldehído) para dar el esteroide de 21 carbonos (fig. 41-3, arriba). Una **proteína reguladora aguda esteroidogénica (StAR)** dependiente de ACTH es esencial para el transporte de colesterol hacia la P450scc en la membrana mitocondrial interna.

Todas las hormonas esteroides de mamífero se forman a partir de colesterol por medio de la pregnenolona mediante una serie de reacciones que ocurren en las mitocondrias o en el retículo endoplásmico de la célula productora. Las hidroxilasas que necesitan oxígeno molecular y NADPH son esenciales, y las deshidrogenasas, una isomerasa, y una reacción de liasa, también son necesarias para ciertos tipos. Hay especificidad celular en la esteroidogénesis suprarrenal. Por ejemplo, la 18-hidroxilasa y la 19-hidroxiesteroide deshidrogenasa, que se requieren para la síntesis de aldosterona, sólo se encuentran en las células de la zona glomerulosa (la región externa de la corteza suprarrenal), de modo que la biosíntesis de este mineralocorticoide se confina a esta región. La figura 41-4 muestra una representación esquemática de las vías involucradas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales. Las enzimas se muestran en los cuadros rectangulares, y las modificaciones en cada paso están sombreadas.

Síntesis de mineralocorticoide

La síntesis de aldosterona sigue la vía de mineralocorticoide y sucede en la zona glomerulosa. La pregnenolona se convierte en progesterona por medio de la acción de dos enzimas del retículo endoplásmico liso, la **3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD)** y **$\Delta^{5,4}$-isomerasa.** La progesterona se hidroxila en la posición C_{21} para formar 11-desoxicorticosterona (DOC), que es un mineralocorticoide activo (que retiene Na^+). La siguiente hidroxilación, en C_{11}, produce corticosterona, que tiene actividad de glucocorticoide y es un mineralocorticoide débil (tiene menos de 5% de la potencia de la aldosterona). En algunas especies (p. ej., roedores) es el glucocorticoide más potente. La hidroxilación de C_{21} se necesita para la actividad tanto de mineralocorticoide como de glucocorticoide, pero casi todos los esteroides con un grupo hidroxilo C_{17} tienen más acción glucocorticoide y menos acción mineralocorticoide. En la zona glomerulosa, que carece de la enzima 17α-hidroxilasa del retículo endoplásmico liso, hay una 18-hidroxilasa mitocondrial. La **18-hidroxilasa (aldosterona sintasa)** actúa sobre la corticosterona para formar 18-hidroxicorticosterona, que se cambia a aldosterona mediante conversión del alcohol 18 en un aldehído. Esta distribución singular de enzimas, y la regulación especial de la zona glomerulosa por K^+ y angiotensina II, han llevado a algunos investigadores a sugerir que, además de que las suprarrenales son dos glándulas, la corteza suprarrenal de hecho son dos órganos separados.

Síntesis de glucocorticoide

La síntesis de cortisol requiere tres hidroxilasas ubicadas en las zonas fasciculada y reticular de la corteza suprarrenal que actúan secuencialmente sobre las posiciones C_{17}, C_{21} y C_{11}. Las primeras dos reacciones son rápidas, mientras que la hidroxilación de C_{11} es relativamente lenta. Si la posición C_{11} se hidroxila primero, la acción de la **17α-hidroxilasa** queda obstaculizada, y se sigue la vía de minera-

FIGURA 41-3 División de cadena lateral de colesterol y estructuras de hormona esteroide básicas. Los anillos esterol básicos se identifican mediante las letras A-D. Los átomos de carbono se numeran del 1 al 21, empezando en el anillo A.

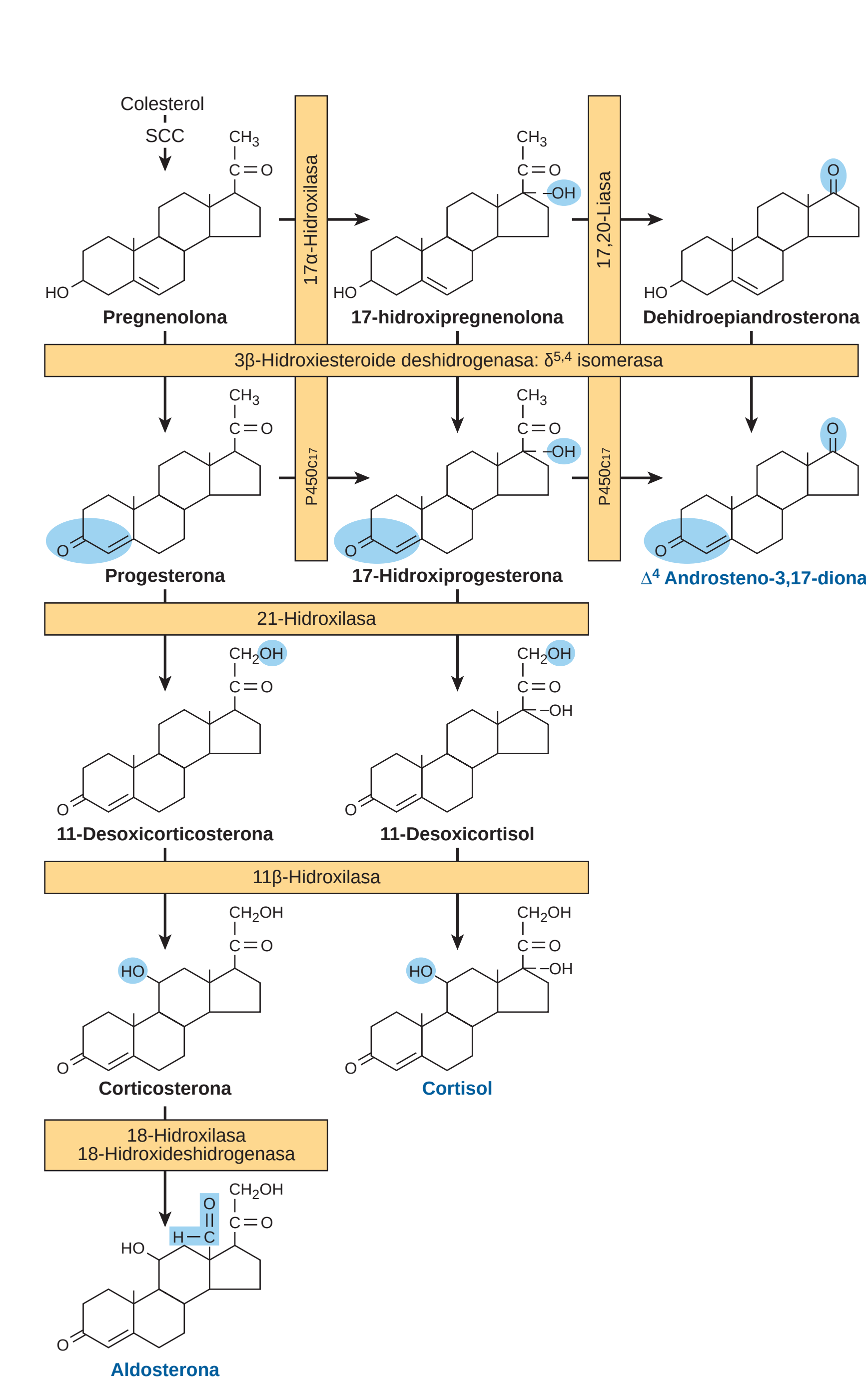


FIGURA 41-4 Vías comprendidas en la síntesis de las tres clases principales de esteroides suprarrenales (mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos). Las enzimas se muestran en los rectángulos y las modificaciones en cada paso están sombreadas. Note que las actividades de la 17 α-hidroxilasa y 17,20-liasa forman parte de una enzima, designada P450c17. (Modificada y reproducida, con autorización, de Harding BW: En: *Endocrinology*, vol 2. DeGroot LJ [editor]. Grune & Stratton, 1979. Copyright © 1979 Elsevier Inc. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

locorticoide (lo que forma corticosterona o aldosterona, dependiendo del tipo de célula). La 17α-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso que actúa sobre la progesterona o, con mayor frecuencia, sobre la pregnenolona. La 17α-hidroxiprogesterona se hidroxila en C_{21} para formar 11-desoxicortisol, que a continuación se hidroxila en C_{11} para formar cortisol, la hormona glucocorticoide natural más potente en seres humanos. La 21-hidroxilasa es una enzima del retículo endoplásmico liso, mientras que la 11β-hidroxilasa es una enzima mitocondrial. De esta manera, la esteroidogénesis involucra el transborde repetido de sustratos hacia adentro y hacia afuera de las mitocondrias.

Síntesis de andrógeno

El principal andrógeno o precursor de andrógeno producido por la corteza suprarrenal es la dehidroepiandrosterona (DHEA). Casi toda la 17-hidroxipregnenolona sigue la vía de los glucocorticoides, pero una pequeña fracción queda sujeta a fisión oxidativa y eliminación de la cadena lateral de dos carbonos por medio de la acción de la 17,20-liasa. La actividad de liasa en realidad forma parte de la misma enzima (P450c17) que cataliza la 17 α-hidroxilación. Por ende, ésta es una **proteína de función doble.** La actividad de liasa tiene importancia tanto en las suprarrenales como en las gónadas, y actúa de modo exclusivo sobre moléculas que contienen 17 α-hidroxi. La producción de andrógenos en las suprarrenales se incrementa de manera notoria si la biosíntesis de glucocorticoide queda obstaculizada por la falta de una de las hidroxilasas **(síndrome adrenogenital).** La DHEA de hecho es una prohormona, dado que las acciones de la 3β-OHSD y de la $\Delta^{5,4}$-isomerasa convierten el andrógeno débil DHEA en la **androstenediona,** que es más potente. Asimismo, se forman pequeñas cantidades de androstenediona en

las suprarrenales mediante la acción de la liasa sobre la 17α-hidroxiprogesterona. La disminución de la androstenediona en la posición C_{17} da por resultado la formación de **testosterona,** el andrógeno suprarrenal más potente. Pequeñas cantidades de testosterona se producen en las suprarrenales por medio de este mecanismo, pero la mayor parte de esta conversión ocurre en los testículos.

Esteroidogénesis testicular

Los andrógenos testiculares se sintetizan en el tejido intersticial por las células de Leydig. El precursor inmediato de los esteroides gonadales, al igual que para los esteroides suprarrenales, es el colesterol. El paso limitante, al igual que en las suprarrenales, es el aporte de colesterol a la membrana interna de las mitocondrias mediante la proteína de transporte StAR. Una vez que el colesterol se encuentra en la ubicación apropiada, la enzima de división de cadena lateral P450scc actúa sobre él. La conversión de colesterol en pregnenolona es idéntica en las suprarrenales, los ovarios y los testículos. Con todo, en estos dos últimos tejidos la reacción es promovida por la LH más que por la ACTH.

La conversión de pregnenolona en testosterona necesita la acción de cinco actividades enzimáticas contenidas en tres proteínas: 1) 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-OHSD) y $\Delta^{5,4}$-isomerasa; 2) 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa, y 3) 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-OHSD). Esta secuencia se denomina la vía de la **progesterona (o Δ^4)** (fig. 41-5, lado derecho). La pregnenolona también puede convertirse en testosterona por la vía de la **dehidroepiandrosterona (o Δ^5)** (fig. 41-5, lado izquierdo). La ruta Δ^5 parece ser la más usada en los testículos de ser humano.

Las cinco actividades enzimáticas están localizadas en la fracción microsómica en los testículos de rata, y hay un estrecho vínculo funcional entre las actividades de la 3β-OHSD y la $\Delta^{5,4}$-isomerasa, y entre las de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa. Estos pares de enzimas, ambos contenidos en una proteína única, se muestran en la secuencia de reacción general en la figura 41-5.

La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona en tejidos periféricos

La testosterona se metaboliza mediante dos vías. Una involucra oxidación en la posición 17, y la otra reducción del doble enlace del anillo A y la 3-cetona. El metabolismo por medio de la primera vía sucede en muchos tejidos, incluso el hígado, y produce 17-cetosteroides que por lo general son inactivos o menos activos que el compuesto original. El metabolismo mediante la segunda vía, que es menos eficiente, ocurre principalmente en tejidos blanco y produce el potente metabolito dihidrotestosterona (DHT).

La DHT es el producto metabólico más importante de la testosterona, porque en muchos tejidos, entre ellos la próstata, los genitales externos y algunas áreas de la piel, ésta es la forma activa de la hormona. El contenido de DHT en el plasma en el varón adulto es de aproximadamente una décima parte del de testosterona y alrededor de 400 µg de DHT se producen al día en comparación con unos 5 mg de testosterona. Los testículos secretan alrededor de 50 a 100 µg de DHT. El resto se produce en la periferia a partir de la testosterona en una reacción catalizada por la **5α-reductasa** dependiente de NADPH (fig. 41-6). Así, la testosterona puede considerarse una prohormona, porque se convierte en un compuesto mucho más potente (la dihidrotestosterona), y porque la mayor parte de esta conversión sucede fuera de los testículos. Se forma algo de estradiol a partir de la aromatización periférica de la testosterona, particularmente en varones.

Esteroidogénesis ovárica

Los estrógenos son una familia de hormonas que se sintetizan en diversos tejidos. El 17β-estradiol es el estrógeno primario de origen ovárico. En algunas especies, la estrona, que se sintetiza en muchos tejidos, es más abundante. Durante el embarazo, se produce relativamente más estriol, y éste proviene de la placenta. La vía general y la ubicación subcelular de las enzimas involucradas en los pasos tempranos de la síntesis de estradiol son las mismas que las implicadas en la biosíntesis de andrógeno. Las características singulares para los ovarios se ilustran en la figura 41-7.

Los estrógenos se forman por medio de la aromatización de andrógenos en un proceso complejo que comprende tres pasos de hidroxilación, cada uno de los cuales requiere O_2 y NADPH. Se cree que el **complejo enzimático aromatasa** incluye una P450 monooxigenasa. El estradiol se forma si el sustrato de este complejo enzimático es testosterona, mientras que se produce estrona a partir de la aromatización de la androstenediona.

La fuente celular de los diversos esteroides ováricos ha sido difícil de descubrir, pero está involucrada una transferencia de sustratos entre dos tipos de célula. Las células de la teca son la fuente de la androstenediona y la testosterona, las cuales se convierten, mediante la enzima aromatasa, en células de la granulosa en estrona y estradiol, respectivamente. La progesterona, un precursor de todas las hormonas esteroides, se produce y secreta en el cuerpo amarillo como una hormona producto terminal, porque estas células no contienen las enzimas necesarias para convertir progesterona en otras hormonas esteroides (fig. 41-8).

Se producen cantidades importantes de estrógenos por medio de la aromatización periférica de andrógenos. En varones, la aromatización periférica de la testosterona hacia estradiol (E_2) explica 80% de la producción de este último. En mujeres, los andrógenos suprarrenales son sustratos importantes, puesto que hasta 50% del E_2 producido en el transcurso de la gestación proviene de la aromatización de andrógenos. Finalmente, la conversión de androstenediona en estrona es la principal fuente de estrógenos en mujeres posmenopáusicas. La actividad de aromatasa está presente en células adiposas y en el hígado, la piel y otros tejidos. La actividad aumentada de esta enzima puede contribuir a la "estrogenización" que caracteriza a enfermedades como cirrosis del hígado, hipertiroidismo, envejecimiento y obesidad. Los inhibidores de aromatasa se muestran promisorios como agentes terapéuticos en el cáncer mamario y posiblemente en otras enfermedades malignas de las vías reproductoras femeninas.

El $1,25(OH)_2$-D_3 (calcitriol) se sintetiza a partir de un derivado del colesterol

El $1,25(OH)_2$-D_3 se produce mediante una serie compleja de reacciones enzimáticas que involucran el transporte plasmático de moléculas precursoras hacia diversos tejidos (fig. 41-9). Uno de estos precursores es la vitamina D, que en realidad no es una vitamina, pero persiste este nombre común. La molécula activa, $1,25(OH)_2$-D_3, se transporta hacia otros órganos donde desencadena procesos biológicos de un modo similar al empleado por las hormonas esteroides.

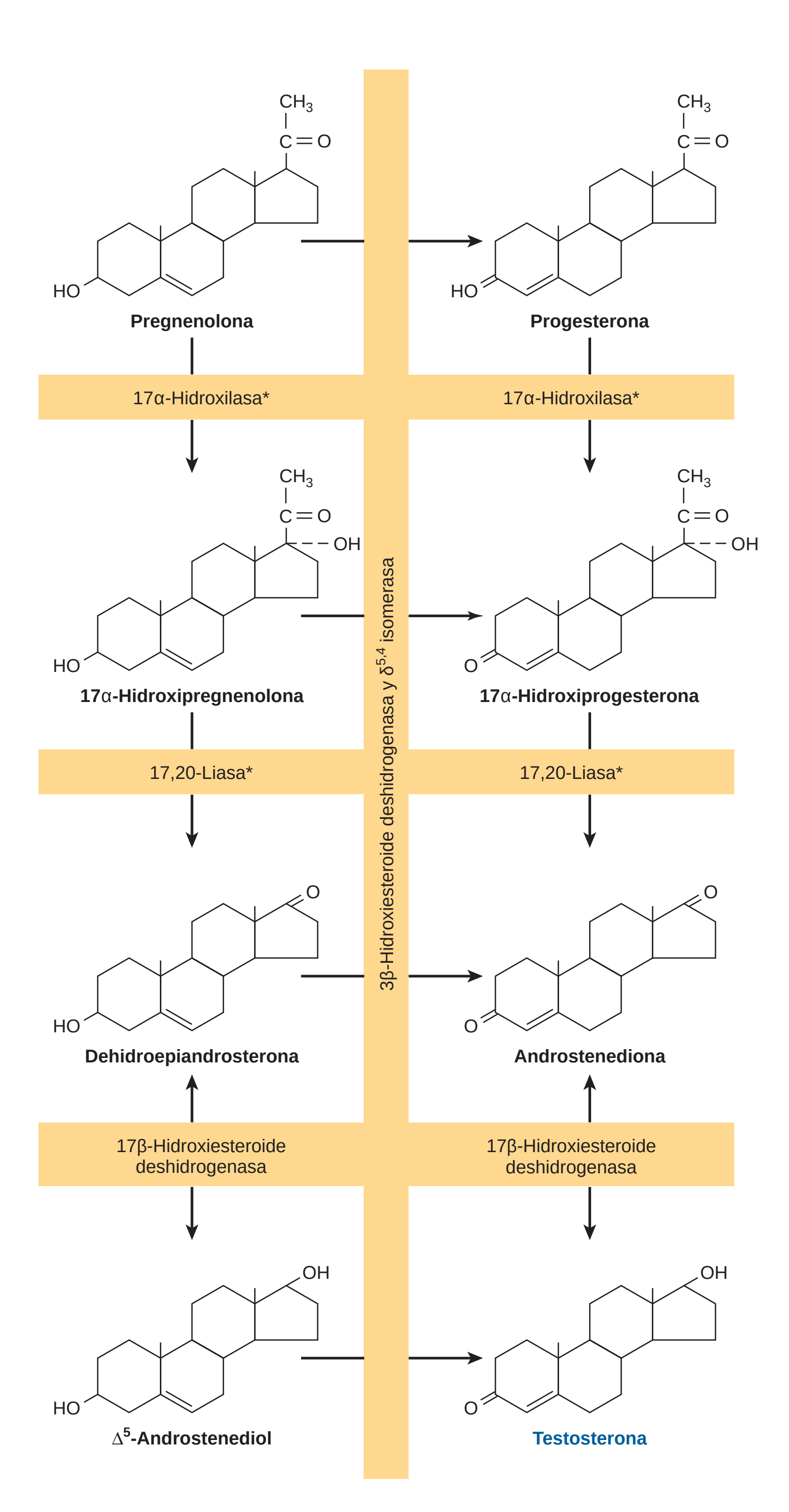


FIGURA 41-5 Vías de la biosíntesis de testosterona. La vía en el lado izquierdo de la figura se llama la vía de la **Δ**^{5} o de la dehidroepiandrosterona; la vía en el lado derecho se denomina la vía **Δ**^{4} o de la progesterona. El asterisco indica que las actividades de la 17α-hidroxilasa y 17,20-liasa residen en una proteína única, P450c17.

OH
O
Testosterona
5α-Reductasa
NADPH
OH
O
H
Dihidrotestosterona (DHT)

FIGURA 41-6 La dihidrotestosterona se forma a partir de testosterona por medio de la acción de la enzima 5α-reductasa.

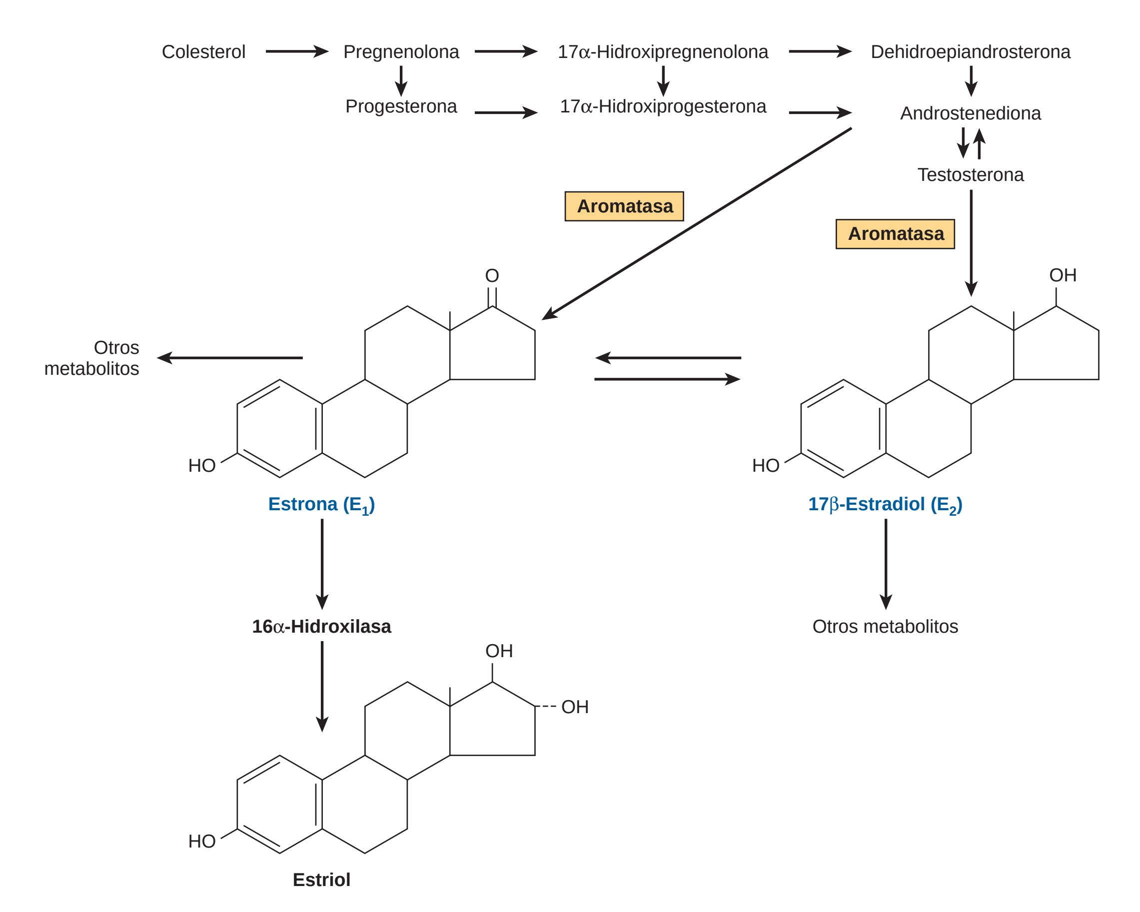


FIGURA 41-7 Biosíntesis de estrógenos. (Modificada y reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology,* 21st ed. McGraw-Hill, 2005.)

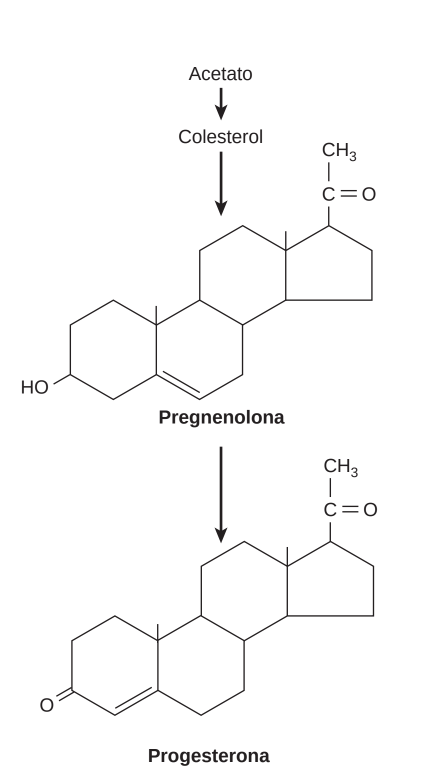


FIGURA 41-8 Biosíntesis de progesterona en el cuerpo amarillo.

Piel

Pequeñas cantidades del precursor para la síntesis de 1,25$(OH)_2$-D_3 están en los alimentos (aceite de hígado de pescado, yema de huevo), pero la mayor parte del precursor se produce en la capa de Malpighi de la epidermis a partir del 7-dehidrocolesterol en una reacción de **fotólisis** no enzimática, mediada por luz ultravioleta. La magnitud de esta conversión se relaciona de manera directa con la intensidad de la exposición e inversamente con la magnitud de la pigmentación de la piel. Hay una pérdida (relacionada con la edad) del 7-dehidrocolesterol en la epidermis, que quizá muestre vínculo con el balance negativo de calcio relacionado con la edad avanzada.

Hígado

Una proteína de transporte específica, la **proteína de unión a vitamina D** se une a la vitamina D_3 y sus metabolitos, y mueve a la vitamina D_3 desde la piel o el intestino hacia el hígado, donde pasa por 25-hidroxilación, la primera reacción obligatoria en la producción de 1,25$(OH)_2$-D_3. La 25-hidroxilación ocurre en el retículo endoplásmico en una reacción que necesita magnesio, NADPH, oxígeno molecular, y un factor citoplásmico no caracterizado. Participan dos enzimas: una citocromo P450 reductasa dependiente de NADPH, y un citocromo P450. Esta reacción es no regulada, y sucede también con baja eficiencia en los riñones y el intestino. El 25$(OH)_2$-D_3 entra en la circulación, donde es la principal forma de vitamina D que se encuentra en el plasma, y se transporta hacia los riñones por medio de la proteína de unión a vitamina D.

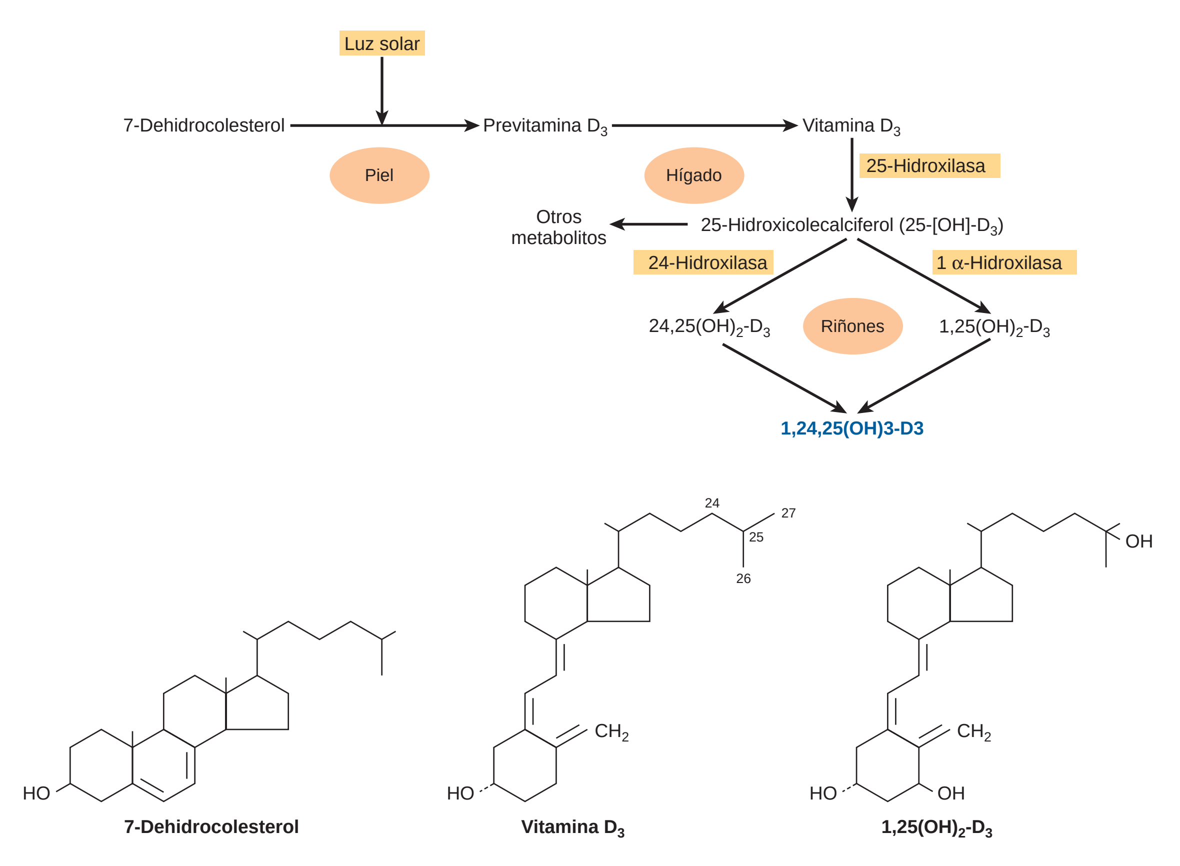


FIGURA 41-9 Formación e hidroxilación de la vitamina D_3. La 25-hidroxilación tiene lugar en el hígado, y las otras hidroxilaciones, en los riñones. Probablemente también se forman 25,26$(OH)_2$-D_3 y 1,25,26$(OH)_3$-D_3. Asimismo, se muestran las fórmulas del 7-dehidrocolesterol, vitamina D_3, y 1,25$(OH)_2$-D_3. (Modificada y reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2005.)

Riñones

El 25$(OH)_2$-D_3 es un agonista débil, y debe modificarse mediante hidroxilación en la posición C_1 para que tenga actividad biológica completa. Esto se logra en las mitocondrias del túbulo contorneado proximal renal por medio de una reacción de monooxigenasa de tres componentes que requiere NADPH, Mg^{2+}, oxígeno molecular y al menos tres enzimas: 1) una flavoproteína, ferredoxina reductasa renal; 2) una proteína de hierro-azufre, ferredoxina renal, y 3) citocromo P450. Este sistema produce 1,25$(OH)_2$-D_3, que es el metabolito natural más potente de la vitamina D.

LAS CATECOLAMINAS Y LAS HORMONAS TIROIDEAS SE FORMAN A PARTIR DE TIROSINA

Las catecolaminas son sintetizadas en forma final y almacenadas en gránulos de secreción

Tres aminas —dopamina, norepinefrina y epinefrina— se sintetizan a partir de la tirosina en las células cromafines de la médula suprarrenal. El principal producto de la médula suprarrenal es la epinefrina. Este compuesto constituye un 80% de las catecolaminas en la médula y no se produce en tejido extramedular. En contraste, la mayor parte de la norepinefrina presente en órganos inervados por nervios simpáticos se sintetiza *in situ* (alrededor de 80% del total), y la mayor parte del resto se produce en otras terminaciones nerviosas y alcanza los sitios blanco mediante la circulación. La epinefrina y la norepinefrina se pueden producir y almacenar en diferentes células en la médula suprarrenal y otros tejidos cromafines.

La conversión de la tirosina en epinefrina necesita cuatro pasos secuenciales: 1) hidroxilación de anillo; 2) descarboxilación; 3) hidroxilación de cadena lateral para formar norepinefrina, y 4) *N*-metilación para formar epinefrina. La figura 41-10 ilustra la vía biosintética y las enzimas involucradas.

La tirosina hidroxilasa es limitante para la biosíntesis de catecolamina

La **tirosina** es el precursor inmediato de las catecolaminas y la **tirosina hidroxilasa** es la enzima limitante en la biosíntesis de catecolamina. La tirosina hidroxilasa se encuentra en formas tanto soluble como unida a partículas sólo en los tejidos que sintetizan catecolaminas; funciona como una oxidorreductasa, con tetrahidropteridina como un cofactor, para convertir a la l-tirosina en l-dihidroxifenilalanina **(l-dopa).** Como la enzima limitante, la tirosina

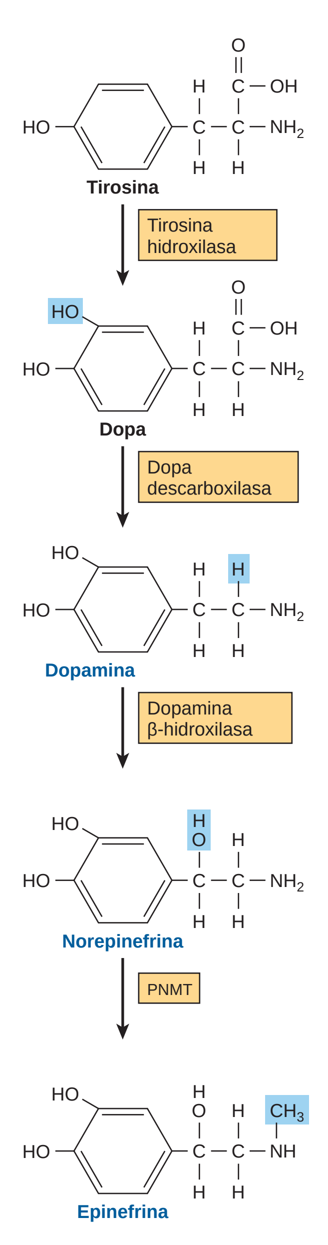


FIGURA 41-10 Biosíntesis de catecolaminas. (PNMT, feniletanolamina-*N*-metiltransferasa.)

hidroxilasa se regula de diversas maneras. El mecanismo de mayor importancia comprende inhibición por retroacción por las catecolaminas, que compiten con la enzima por el cofactor pteridina. Las catecolaminas no pueden cruzar la barrera hematoencefálica; por consiguiente, en el cerebro se deben sintetizar localmente. En ciertas enfermedades del sistema nervioso central (p. ej., enfermedad de Parkinson), hay una deficiencia local de síntesis de dopamina. La l-dopa, el precursor de la dopamina, cruza con facilidad la barrera hematoencefálica y, de este modo, es un agente importante en el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

La dopa descarboxilasa está presente en todos los tejidos

Esta enzima soluble requiere fosfato de piridoxal para la conversión de l-dopa en 3,4-dihidroxifeniletilamina **(dopamina).** Los compuestos que semejan l-dopa, como α-metildopa, son inhibidores competitivos de esta reacción. La α-metildopa es eficaz para tratar algunos tipos de hipertensión.

La dopamina β-hidroxilasa (DBH) cataliza la conversión de dopamina en norepinefrina

La DBH es una monooxigenasa, y usa ascorbato como un donador de electrón, cobre en el sitio activo, y fumarato como modulador. La DBH está en la fracción particulada de las células medulares, probablemente en el gránulo de secreción; de esta manera, la dopamina se convierte en **norepinefrina** en este organelo.

La feniletanolamina-*N*-metiltransferasa (PNMT) cataliza la producción de epinefrina

La PNMT cataliza la *N*-metilación de la norepinefrina para formar **epinefrina** en las células formadoras de epinefrina de la médula suprarrenal. Dado que la PNMT es soluble, se supone que la norepinefrina se convierte en epinefrina en el citoplasma. La síntesis de PNMT es inducida por hormonas glucocorticoides que llegan a la médula por medio del sistema porta intradrenal. Este sistema especial proporciona un gradiente de concentración de esteroide de 100 veces sobre la sangre arterial sistémica, y esta cifra intraadrenal alta parece ser necesaria para la inducción de PNMT.

La T_3 y T_4 ilustran la diversidad en la síntesis de hormona

La formación de **triyodotironina (T_3)** y **tetrayodotironina (tiroxina; T_4)** (fig. 41-2) ilustra muchos de los principios de diversidad comentados en este capítulo. Estas hormonas necesitan un elemento raro (yodo) para tener bioactividad; se sintetizan como parte de una molécula precursora muy grande (tiroglobulina); se almacenan en un reservorio intracelular (coloide), y hay conversión periférica de T_4 en T_3, que es una hormona mucho más activa.

Las hormonas tiroideas T_3 y T_4 son singulares por cuanto el yodo (como yoduro) es un componente esencial de ambas. En casi todo el mundo, el yodo es un componente escaso del suelo, y por eso hay poco en los alimentos. La evolución ha creado un mecanismo complejo para adquirir y retener este elemento crucial, y convertirlo en una forma idónea para la incorporación hacia compuestos orgánicos. Al mismo tiempo, la tiroides debe sintetizar tironina a partir de tirosina, y esta síntesis tiene lugar en la tiroglobulina (fig. 41-11).

La **tiroglobulina** es el precursor de T_4 y T_3. Es una proteína glucosilada, yodada, grande, con una masa molecular de 660 kDa. El carbohidrato explica 8 a 10% del peso de la tiroglobulina, y el yoduro un 0.2 a 1%, según el contenido de yodo en la dieta. La tiroglobulina está compuesta de dos subunidades grandes. Contiene 115 residuos tirosina, cada uno de los cuales es un sitio potencial de yodación. Alrededor de 70% del yoduro en la tiroglobulina existe en los precursores inactivos, **monoyodotirosina (MIT)** y **diyodotirosina (DIT),** mientras que 30% está en los **residuos yodotironilo,** T_4 y T_3. Cuando el suministro de yodo es suficiente, la proporción T_4:T_3 es de aproximadamente 7:1. En la **deficiencia de yodo,** esta proporción disminuye, al igual que la proporción DIT:MIT. La tiroglobulina, una molécula grande de alrededor de 5 000 aminoácidos, proporciona la conformación requerida para el acoplamiento de tirosilo y la organificación de yoduro necesarias en la formación de

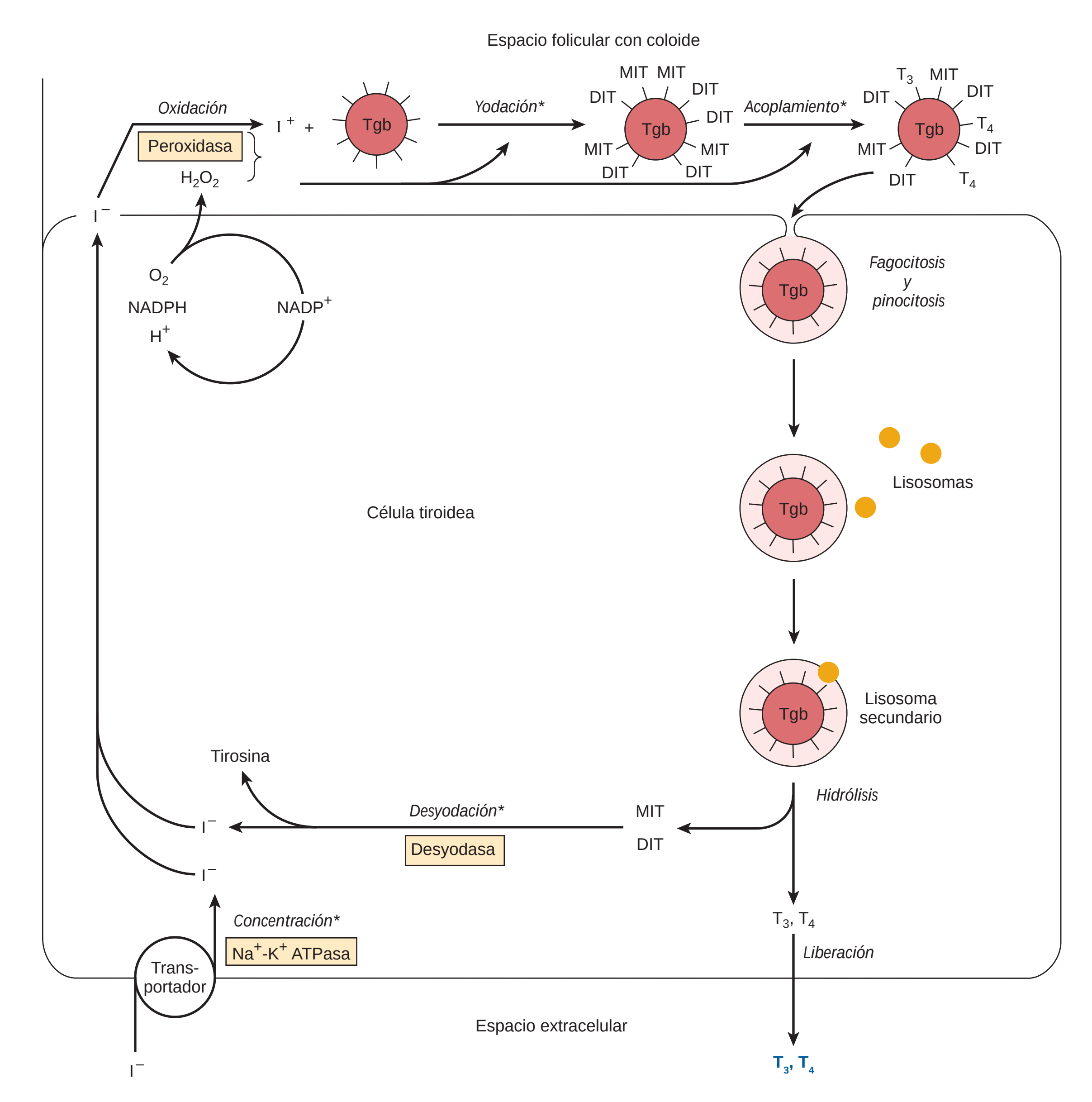


FIGURA 41-11 Modelo del metabolismo del yoduro en el folículo tiroideo. Se muestra una célula folicular mirando hacia la luz folicular **(arriba)** y el espacio extracelular **(abajo)**. El yoduro entra en la tiroides principalmente por medio de un transportador **(abajo a la izquierda)**. La hormona tiroidea se sintetiza en el espacio folicular por medio de una serie de reacciones, muchas de las cuales están mediadas por peroxidasa. Las hormonas tiroideas, almacenadas en el coloide en el espacio folicular, se liberan de la tiroglobulina mediante hidrólisis dentro de la célula tiroidea. (Tgb, tiroglobulina; MIT, monoyodotirosina; DIT, diyodotirosina; T_3, triyodotironina; T_4, tetrayodotironina.) Los asteriscos indican los pasos o los procesos donde las deficiencias hereditarias de enzima producen bocio congénito y, a menudo, hipotiroidismo.

las hormonas tiroideas diaminoácido. Se sintetiza en la porción basal de la célula, y se mueve hacia la luz, donde constituye una forma de almacenamiento de T_3 y T_4 en el coloide; en la tiroides normal existe reserva de estas hormonas para varias semanas. Minutos después de estimulación de la tiroides por TSH, el coloide vuelve a entrar en la célula, y hay un notorio incremento de la actividad de fagolisosoma.

Diversas proteasas y peptidasas ácidas hidrolizan la tiroglobulina hacia los aminoácidos que la constituyen, incluso T_4 y T_3, que se descargan desde la parte basal de la célula (fig. 41-11). Así, la tiroglobulina es una prohormona muy grande.

El metabolismo de yoduro incluye varios pasos separados

La tiroides tiene la capacidad para concentrar I^- contra un gradiente electroquímico fuerte. Éste es un proceso dependiente de energía, y está enlazado al transportador de I^- tiroideo dependiente de Na^+-K^+-ATPasa. La proporción entre yoduro en la tiroides y yoduro en el suero (proporción T:S) es un reflejo de la actividad de este transportador. Esta actividad es controlada sobre todo por la TSH, y varía desde 500:1 en animales estimulados de modo crónico con TSH, hasta 5:1 o menos en animales hipofisectomizados (sin TSH). La

proporción T:S en seres humanos que reciben una dieta con contenido normal de yodo es de aproximadamente 25:1.

La tiroides es el único tejido capaz de oxidar I^- hacia un estado de valencia más alto, un paso obligatorio en la organificación de I^- y la biosíntesis de hormona tiroidea. Este paso comprende una peroxidasa que contiene hem y sucede en la superficie luminal de la célula folicular. La tiroperoxidasa, una proteína tetramérica con una masa molecular de 60 kDa, requiere peróxido de hidrógeno como un agente oxidante. El H_2O_2 se produce mediante una enzima dependiente de NADPH que semeja a la citocromo *c* reductasa. Varios compuestos inhiben la oxidación de I^- y, por tanto, su incorporación subsiguiente hacia MIT y DIT. Los más importantes de éstos son los fármacos tiourea, que se usan como antitiroideos debido a su capacidad para inhibir la biosíntesis de hormona tiroidea en este paso. Una vez que ocurre yodación, el yodo no abandona con facilidad la tiroides. La tirosina libre se puede yodar, pero no se incorpora hacia proteínas puesto que ningún tRNA reconoce la tirosina yodada.

El acoplamiento de dos moléculas de DIT para formar T_4 —o de una MIT y DIT para formar T_3— sucede dentro de la molécula de tiroglobulina. No se ha encontrado una enzima acopladora separada, y dado que éste es un proceso oxidativo, se asume que la misma tiroperoxidasa cataliza esta reacción al estimular la formación de radical libre de yodotirosina. Esta hipótesis recibe apoyo por la observación de que los mismos medicamentos que inhiben la oxidación de I^- también inhiben el acoplamiento. Las hormonas tiroideas formadas permanecen como partes integrales de la tiroglobulina hasta que esta última se degrada, como se describió.

Una desyodasa elimina I^- de las moléculas de monoyodotironina y diyodotironina inactivas en la tiroides. Este mecanismo proporciona una cantidad considerable del I^- que se usa en la biosíntesis de T_3 y T_4. Una desyodasa periférica en tejidos blanco como la hipófisis, los riñones y el hígado, elimina de manera selectiva I^- desde la posición 5′ de T_4 para hacer T_3 (fig. 41-2), que es una molécula bastante más activa. En este sentido, la T_4 puede considerarse una prohormona, aun cuando tiene algo de actividad intrínseca.

Varias hormonas se sintetizan a partir de precursores peptídicos de mayor tamaño

La formación de los puentes disulfuro cruciales en la insulina exige que esta hormona se sintetice primero como parte de una molécula precursora de mayor tamaño, la proinsulina. Desde el punto de vista conceptual, esto es similar al ejemplo de las hormonas tiroideas, que sólo pueden formarse en el contexto de una molécula de mucho mayor tamaño. Varias otras hormonas se sintetizan como partes de moléculas precursoras grandes, no debido a algún requerimiento estructural especial, sino más bien como un mecanismo para controlar la cantidad disponible de la hormona activa. La PTH y la angiotensina II son ejemplos de este tipo de regulación. Otro ejemplo interesante es la proteína POMC, la cual puede procesarse hacia

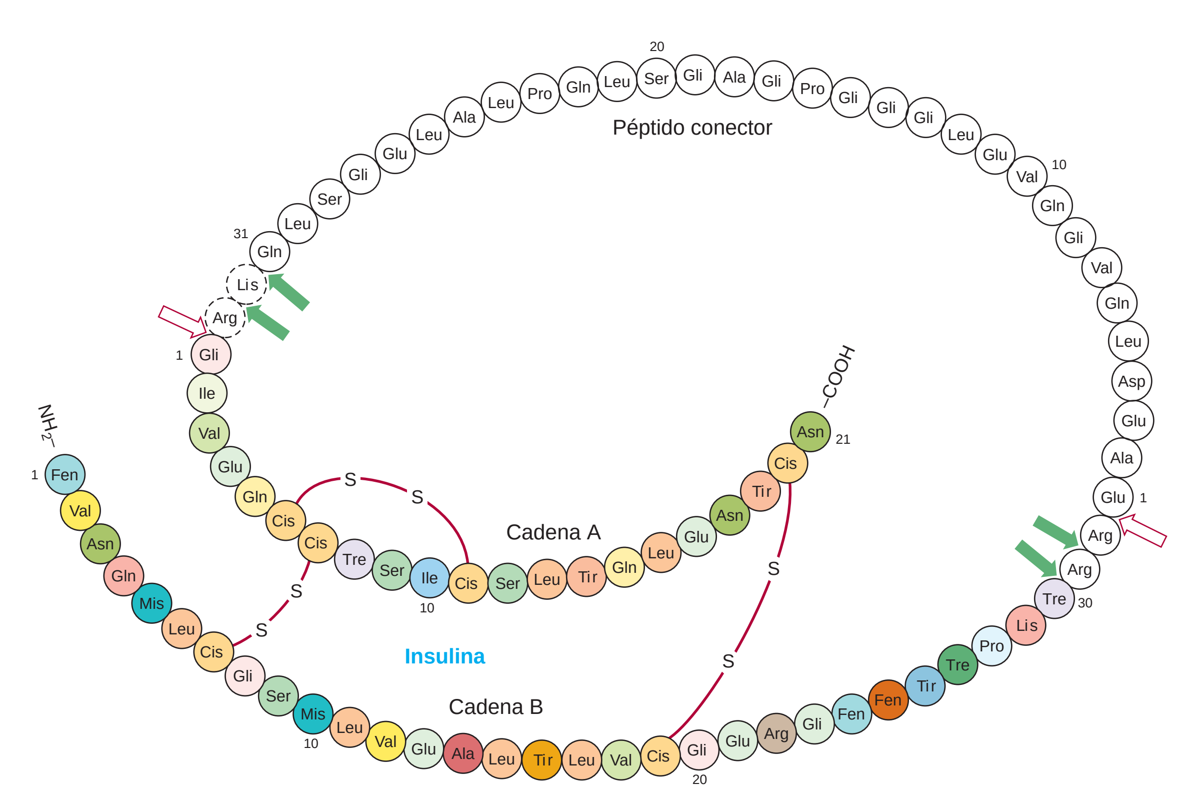


FIGURA 41-12 Estructura de la proinsulina humana. Las moléculas de insulina y péptido C están conectadas en dos sitios por medio de enlaces dipeptídicos. Una división inicial mediante una enzima parecida a tripsina **(flechas blancas)** seguida por varias divisiones por medio de una enzima parecida a carboxipeptidasa **(flechas verdes)** ocasionan la producción de una molécula de insulina heterodimérica (AB) **(a colores)** y el péptido C **(de color blanco)**.

muchas hormonas diferentes de un modo específico para tejido. Estos ejemplos se comentan con detalle más adelante.

La insulina se sintetiza como una preprohormona y se modifica dentro de la célula β

La insulina tiene una estructura heterodimérica AB con un puente disulfuro intracadena (A6-A11) y dos puentes disulfuro intercadena (A7-B7 y A20-B19) (fig. 41-12). Las cadenas A y B pudieron sintetizarse en el laboratorio, pero los intentos por efectuar una síntesis bioquímica de la molécula de insulina madura dieron muy malos resultados. La razón de esto quedó de manifiesto cuando se descubrió que la insulina se sintetiza como una **preprohormona** (masa molecular relativa [peso molecular] de alrededor de 11 500), que es el prototipo para péptidos que se procesan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño. La secuencia de 23 aminoácidos hidrofóbica pre-, o líder, dirige a la molécula hacia las cisternas del retículo endoplásmico, y después se elimina. Esto origina la molécula de proinsulina de masa molecular relativa (peso molecular) de 9 000, que proporciona la conformación necesaria para la formación apropiada y eficiente de los puentes disulfuro. La secuencia de la proinsulina, empezando a partir del amino terminal, es cadena B — péptido conector (C) — cadena A. La molécula de proinsulina pasa por una serie de divisiones peptídicas específicas para sitio que causan la formación de cantidades equimolares de insulina madura y péptido C. Estas divisiones enzimáticas se resumen en la figura 41-12.

La hormona paratiroidea (PTH) se secreta como un péptido de 84 aminoácidos

El precursor inmediato de la PTH es la **proPTH,** que difiere de la hormona de 84 aminoácidos natural por tener una extensión hexapéptido aminoterminal muy básica. El producto de gen primario y el precursor inmediato para la proPTH es la **preproPTH** de 115 aminoácidos. Ésta difiere de la proPTH porque tiene una extensión amino terminal de 25 aminoácidos adicional que, en común con las otras secuencias líder o de señal típicas de las proteínas secretadas, es hidrofóbica. La estructura completa de la preproPTH y las secuencias de la proPTH y la PTH se ilustran en la figura 41-13. La $PTH_{1\text{-}34}$ tiene actividad biológica completa y la región 25-34 se encarga principalmente de la unión a receptor.

La biosíntesis de la PTH y su secreción subsiguiente se regulan por la concentración plasmática de calcio ionizado (Ca^{2+}) por medio de un proceso complejo. Una disminución aguda del Ca^{2+} suscita un aumento notorio del mRNA de PTH, y esto va seguido por un índice incrementado de síntesis y secreción de PTH. Aun así, entre 80 a 90% de la proPTH sintetizada no puede explicarse como PTH intacta en las células o en el medio de incubación de sistemas experimentales. Este dato dio pie a la conclusión de que la mayor parte de la proPTH sintetizada se degrada con rapidez. Más tarde se descubrió que este índice de degradación se reduce cuando las cifras de Ca^{2+} son bajas y aumenta cuando son altas. Un receptor de Ca^{2+} sobre la superficie de la célula paratiroidea media estos efectos. Fragmentos muy específicos de la PTH se generan durante su digestión proteolítica (fig. 41-13). Varias enzimas proteolíticas, entre ellas

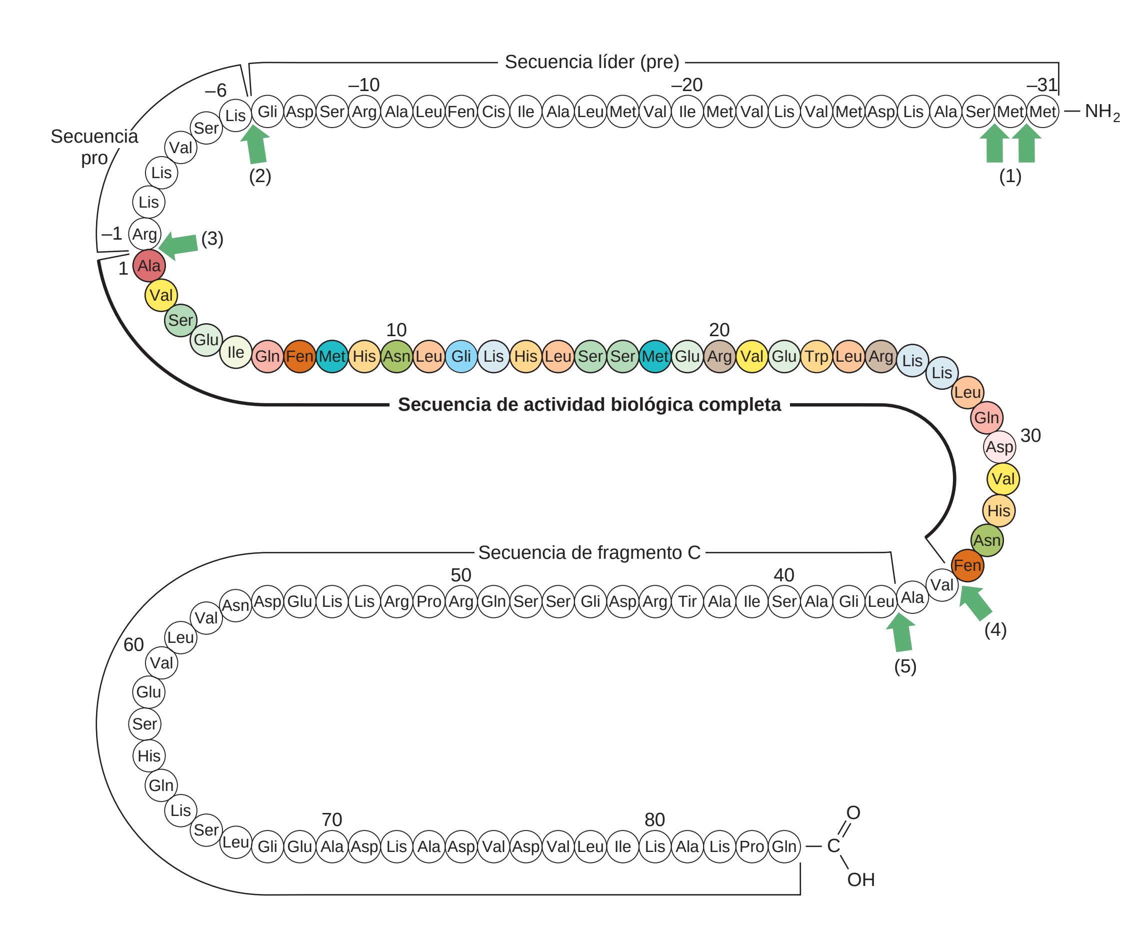


FIGURA 41-13 Estructura de la hormona preproparatiroidea bovina. Las flechas indican los sitios divididos mediante enzimas procesadoras en la glándula paratiroides (1-5) y en el hígado después de secreción de la hormona (4-5). La región biológicamente activa de la molécula **(a colores)** está flanqueada por secuencia no requerida para actividad sobre receptores blanco. (Modificada y reproducida, con autorización, de Habener JF: Recent advances in parathyroid hormone research. Clin Biochem 1981;14:223. Copyright © 1981. Reimpresa con autorización de Elsevier.)

catepsinas B y D, se han identificado en el tejido paratiroideo. La catepsina B divide la PTH en dos fragmentos: PTH_{1-36} y PTH_{37-84}. Esta última no se degrada más; como quiera que sea, la PTH_{1-36} se divide con rapidez y de manera progresiva hacia dipéptidos y tripéptidos. Casi toda la proteólisis de la PTH ocurre dentro de la glándula, pero varios estudios confirman que la PTH, una vez secretada, se degrada de modo proteolítico en otros tejidos, en particular el hígado, mediante mecanismos similares.

La angiotensina II también se sintetiza a partir de un precursor grande

El sistema de renina-angiotensina participa en la regulación de la presión arterial y el metabolismo de electrólitos (por medio de la producción de aldosterona). La hormona primaria incluida en estos procesos es la angiotensina II, un octapéptido que se sintetiza a partir del angiotensinógeno (fig. 41-14). El angiotensinógeno, una globulina α_2 grande producida en el hígado, es el sustrato para la renina, una enzima que se produce en las células yuxtaglomerulares de la arteriola aferente renal. La posición de estas células las hace en especial sensibles a cambios de la presión arterial, y muchos de los reguladores fisiológicos de la liberación de renina actúan mediante barorreceptores renales. Las células yuxtaglomerulares también son sensibles a cambios de la concentración de Na^+ y Cl^- en el líquido de los túbulos renales; en consecuencia, cualquier combinación de factores que disminuya el volumen de líquido (deshidratación, decremento de la presión arterial, pérdida de líquido o de sangre) o la cifras de NaCl, estimula la liberación de renina. Los nervios simpáticos renales que terminan en las células yuxtaglomerulares median los efectos del sistema nervioso central y posturales sobre la liberación de renina de manera independiente de los efectos del barorreceptor y de la sal, un mecanismo que comprende el receptor β-adrenérgico. La renina actúa sobre el angiotensinógeno sustrato para producir el decapéptido angiotensina I.

La enzima convertidora de angiotensina, una glucoproteína que se encuentra en los pulmones, las células endoteliales y el plasma, elimina dos aminoácidos carboxilo terminal del decapéptido angiotensina I para formar angiotensina II en un paso que no se cree que sea limitante. Diversos análogos nonapéptidos de la angiotensina I y otros compuestos actúan como inhibidores competitivos de la enzima convertidora, y se usan para tratar hipertensión dependiente de renina. Éstos se denominan **inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE).** La angiotensina II incrementa la presión arterial al ocasionar vasoconstricción de las arteriolas, y es una sustancia vasoactiva muy potente. Inhibe la liberación de renina a partir de las células yuxtaglomerulares, y es un potente estimulador de la producción de aldosterona. Esto se traduce en retención de Na^+, expansión de volumen, y presión arterial aumentada.

En algunas especies, la angiotensina II se convierte en el heptapéptido angiotensina III (fig. 41-14), un estimulador igual de potente de la producción de aldosterona. En seres humanos, la concentración plasmática de angiotensina II es cuatro veces mayor que la de angiotensina III, de modo que el octapéptido ejerce la mayor parte de los efectos. Las angiotensinasas inactivan con rapidez a las angiotensinas II y III.

La angiotensina II se une a receptores de células de la glomerulosa de la corteza suprarrenal específicos. La interacción hormona-receptor no activa a la adenilil ciclasa, y el cAMP no parece mediar la acción de esta hormona. Las acciones de la angiotensina II, que estimulan la conversión de colesterol en pregnenolona y de corticosterona en 18-hidroxicorticosterona y aldosterona, pueden incluir cambios de las cifras de calcio intracelular y de los metabolitos fosfolípidos por medio de mecanismos similares a los descritos en el capítulo 42.

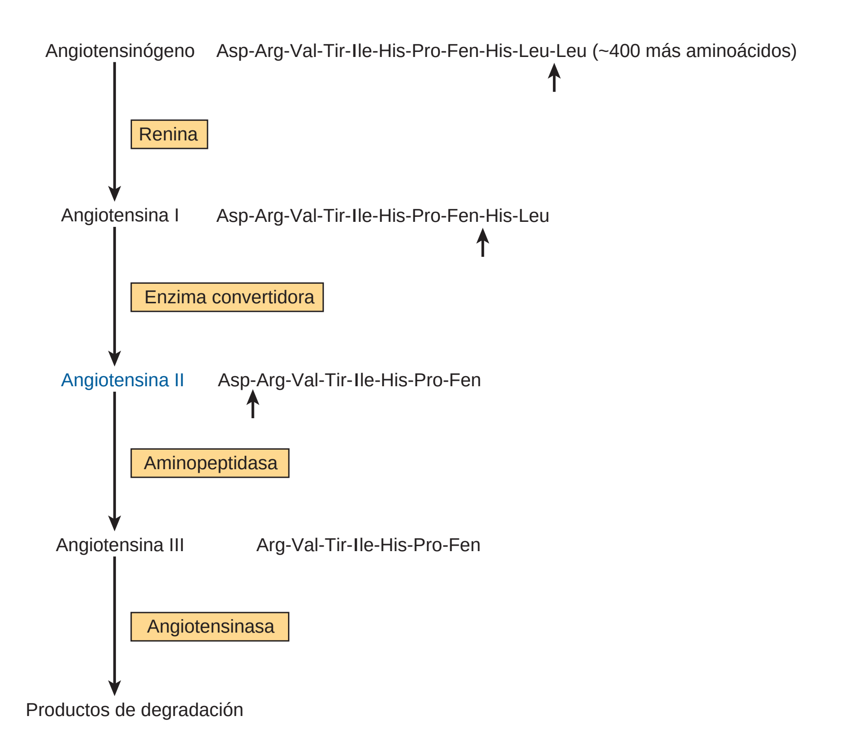


FIGURA 41-14 Formación y metabolismo de angiotensinas. Las flechas pequeñas indican sitios de división.

Procesamiento complejo genera la familia de péptidos pro-opiomelanocortina (POMC)

La familia POMC consta de péptidos que actúan como hormonas (ACTH, LPH, MSH) y otros que pueden servir como neurotransmisores o neuromoduladores (endorfinas) (fig. 41-15). La POMC se sintetiza como una molécula precursora de 285 aminoácidos, y se procesa de manera diferente en diversas regiones de la hipófisis.

El gen que codifica para POMC se expresa en los lóbulos anterior e intermedio de la hipófisis. Las secuencias más conservadas entre las especies están dentro del fragmento amino terminal, la región de ACTH y la región de la β-endorfina. La POMC o productos vinculados se encuentran en varios otros tejidos de vertebrado, entre ellos el cerebro, la placenta, el tubo digestivo, vías reproductoras, pulmones y linfocitos.

La proteína POMC se procesa de modo diferente en el lóbulo anterior que en el lóbulo intermedio de la hipófisis. Este último es rudimentario en seres humanos adultos, pero es activo en fetos humanos y en embarazadas durante las etapas tardías del embarazo, y es también activo en muchas especies de animales. El procesamiento de la proteína POMC en los tejidos periféricos (intestino, placenta, vías reproductoras masculinas) semeja el que sucede en el lóbulo intermedio. Hay tres grupos peptídicos básicos: 1) ACTH, que da lugar a α-MSH y péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina (CLIP); 2) β-lipotropina (β-LPH), que puede dar γ-LPH, β-MSH y β-endorfina (y, de esta manera, α-endorfina y γ-endorfina), y 3) un péptido amino terminal grande, que genera γ-MSH (que no se muestra). La diversidad de estos productos se debe a las muchas agrupaciones aminoácido dibásicas que son sitios de división potenciales para enzimas parecidas a tripsina. Cada uno de los péptidos mencionados va precedido por residuos Lis-Arg, Arg-Lis, Arg-Arg o Lis-Lis. Luego de que el segmento prohormona se divide, la siguiente división, en los lóbulos tanto anterior como intermedio, es entre la ACTH y β-LPH, lo que da por resultado un péptido amino terminal con un segmento ACTH y uno β-LPH (fig. 41-15). La $ACTH_{1-39}$ después se divide del péptido amino terminal, y en el lóbulo anterior en esencia no ocurren más divisiones. En el lóbulo intermedio, la $ACTH_{1-39}$ se divide hacia α-MSH (residuos 1-13) y CLIP (18-39); la β-LPH (42-134) se convierte en γ-LPH (42-101) y β-endorfina (104-134). La β-MSH (84-101) se deriva de la γ-LPH, mientras que la γ-MSH (50-74) se deriva de un fragmento POMC N-terminal (1-74).

Hay extensas modificaciones específicas para tejido adicionales de estos péptidos, que afectan la actividad. Estas modificaciones comprenden fosforilación, acetilación, glucosilación y amidación.

Las mutaciones del receptor α-MSH están enlazadas a una forma de obesidad de inicio temprano, frecuente. Esta observación ha redirigido la atención hacia las hormonas peptídicas POMC.

HAY VARIACIÓN DEL ALMACENAMIENTO Y LA SECRECIÓN DE HORMONAS

Como ya se mencionó, las hormonas esteroides y el 1,25(OH)-D_3 se sintetizan en su forma activa final. También son secretadas a medida que se sintetizan y, de este modo, no hay reservorio intracelular de estas hormonas. Las catecolaminas, que también se sintetizan en forma activa, se almacenan en gránulos en las células cromafines de la médula suprarrenal. En respuesta a estimulación neural apropiada, estos gránulos se liberan desde la célula mediante exocitosis y las catecolaminas se liberan hacia la circulación. Las células cromafines tienen una reserva de catecolaminas para varias horas.

Asimismo, la hormona paratiroidea existe en vesículas de almacenamiento. Hasta 80 a 90% de la proPTH sintetizada se degrada antes de entrar en su compartimiento de almacenamiento final, en particular cuando las concentraciones de Ca^{2+} son altas en la célula paratiroidea (véase antes). La PTH se secreta cuando el Ca^{2+} es bajo en las células paratiroideas, que contienen una reserva de la hormona para varias horas.

El páncreas del ser humano secreta alrededor de 40 a 50 unidades de insulina a diario; esto representa entre 15 a 20% de la hormona almacenada en las células β. La insulina y el péptido C (fig. 41-12) normalmente se secretan en cantidades equimolares. Por ende, estímulos como la glucosa, que desencadena la secreción de insulina, activan el procesamiento de proinsulina hacia insulina como una parte esencial de la respuesta secretoria.

Existe una reserva de T_3 y T_4 para varias semanas en la tiroglobulina que está almacenada en coloide en la luz de los folículos tiroideos. Estas hormonas pueden liberarse en el momento de estimulación por TSH. Éste es el ejemplo más exagerado de una prohormona, puesto que primero se debe sintetizar una molécula que contiene alrededor de 5 000 aminoácidos, y luego degradar, para aportar algunas moléculas de las hormonas activas T_4 y T_3.

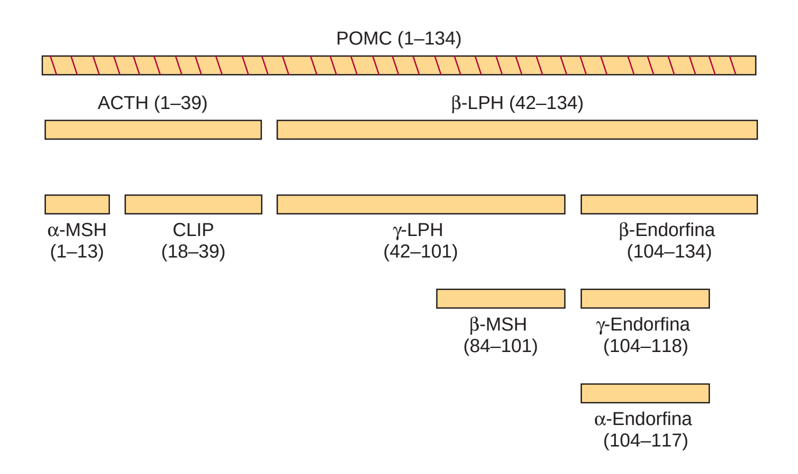


FIGURA 41-15 Productos de la división de pro-opiomelanocortina (POMC). (MSH, hormona estimulante de melanocito; CLIP, péptido del lóbulo intermedio parecido a corticotropina; LPH, lipotropina.)

CUADRO 41-5 Diversidad en el almacenamiento de hormonas

Hormona	Reserva almacenada en la célula
Esteroides y 1,25$(OH)_2$-D_3	Ninguno
Catecolaminas y PTH	Horas
Insulina	Días
T_3 y T_4	Semanas

CUADRO 41-7 Comparación de T_4 y T_3 en el plasma

	Hormona total (μg/dl)	Hormona libre			$T_{1/2}$ en la sangre (días)
		Porcentaje del total	ng/dl	Molaridad	
T_4	8	0.03	~2.24	3.0×10^{-11}	6.5
T_3	0.15	0.3	~0.4	-0.6×10^{-11}	1.5

El cuadro 41-5 ilustra la diversidad del almacenamiento y la secreción de hormonas.

ALGUNAS HORMONAS TIENEN PROTEÍNAS DE TRANSPORTE EN EL PLASMA

Las hormonas clase I son de naturaleza química hidrofóbica y, así, no son muy solubles en el plasma. Estas hormonas, principalmente los esteroides y las hormonas tiroideas, tienen proteínas de transporte en el plasma especializadas que desempeñan varias funciones. En primer lugar, estas proteínas sortean el problema de solubilidad y, de esta manera, suministran la hormona a la célula blanco. También proporcionan un reservorio circulante de la hormona que puede ser considerable, como sucede con las hormonas tiroideas. Las hormonas, cuando están unidas a las proteínas de transporte, no se pueden metabolizar, lo que prolonga su vida media plasmática ($t_{½}$). La afinidad de unión de una hormona dada a su transportador determina la proporción de hormona unida en contraposición con libre. Esto tiene importancia porque sólo la forma libre de una hormona tiene actividad biológica. En general, las cifras de hormona libre en el plasma son muy bajas, dentro del rango de 10^{-15} a 10^{-9} mol/L. También es de suma importancia distinguir entre proteínas de transporte contenidas en el plasma y receptores de hormona. Ambos se unen a las hormonas, pero con características muy diferentes (cuadro 41-6).

Las hormonas hidrofílicas —por lo regular clase II y de estructura peptídica— son libremente solubles en el plasma y no necesitan proteínas de transporte. Las hormonas como la insulina, GH, ACTH y TSH, circulan en la forma libre, activa, y tienen vida media plasmática muy breve. Una notable excepción es el IGF-1, que se transporta unido a miembros de una familia de proteínas de unión.

CUADRO 41-6 Comparación de receptores con proteínas de transporte

Característica	Receptores	Proteínas de transporte
Concentración	Muy baja (miles/célula)	Muy alta (miles de millones/μl)
Afinidad de unión	Alta (rango de pmol/L a nmol/L)	Baja (rango de μmol/L)
Especificidad de unión	Muy alta	Baja
Saturabilidad	Sí	No
Reversibilidad	Sí	Sí
Transducción de señal	Sí	No

Las hormonas tiroideas se transportan por medio de la globulina de unión a tiroxina

Muchos de los principios antes comentados se ilustran en una exposición acerca de las proteínas de unión a tiroxina. La mitad a dos terceras partes de la T_4 y la T_3 en el organismo se encuentran en un reservorio extratiroideo. La mayor parte de esto circula en forma unida, es decir, unida a una proteína de unión específica, la **globulina de unión a tiroxina (TBG).** La TBG, una glucoproteína con una masa molecular de 50 kDa, se une a T_4 y T_3, y tiene la capacidad para unir 20 μg/dl de plasma. En circunstancias normales, la TBG une —de modo no covalente— casi toda la T_4 y T_3 en el plasma, y se une a T_4 con mayor afinidad que a T_3 (cuadro 41-7). La vida media plasmática de T_4 es correspondientemente 4 a 5 veces la de la T_3. La actividad biológica depende de la pequeña fracción no unida (libre). De esta manera, a pesar de la gran diferencia de la cantidad total, la fracción libre de T_3 se aproxima a la de T_4, y dado que T_3 es intrínsecamente más activa que T_4, casi toda la actividad biológica se atribuye a T_3. La TBG no se une a cualquier otra hormona.

Los glucocorticoides se transportan mediante globulina de unión a corticosteroide (CBG)

La hidrocortisona (cortisol) también circula en el plasma en formas unida a proteína y libre. La principal proteína de unión en el plasma

CUADRO 41-8 Afinidades aproximadas de los esteroides para proteínas de unión séricas

	SHBG[1]	CBG[1]
Dihidrotestosterona	1	> 100
Testosterona	2	> 100
Estradiol	5	> 10
Estrona	> 10	> 100
Progesterona	> 100	~2
Cortisol	> 100	~3
Corticosterona	> 100	~5

[1]Afinidad expresada como K_d (nmol/L).

es una α-globulina llamada **transcortina,** o **CBG.** La CBG se produce en el hígado, y los estrógenos incrementan su síntesis, al igual que la de TBG. La CBG se une a la mayor parte de la hormona cuando las concentraciones plasmáticas de cortisol están dentro del límite normal; cantidades considerablemente menores de cortisol están unidas a albúmina. La avidez de unión ayuda a determinar la vida media biológica de diversos glucocorticoides. El cortisol se une de modo estrecho a la CBG, y tiene una $t_{1/2}$ de 1.5 a 2 h, mientras que la corticosterona, que se une de manera menos estrecha, tiene una $t_{1/2}$ de menos de 1 h (cuadro 41-8). El cortisol no unido (libre) constituye alrededor de 8% del total y representa la fracción que tiene actividad biológica. La unión a CBG no se restringe a glucocorticoides. La desoxicorticosterona y la progesterona interactúan con la CBG con suficiente afinidad como para competir por la unión a cortisol. La aldosterona, el mineralocorticoide natural más potente, carece de una proteína de transporte específica en el plasma. Los esteroides gonadales se unen de modo muy débil a la CBG (cuadro 41-8).

Los esteroides gonadales se transportan por medio de la globulina de unión a hormona sexual

Casi todos los mamíferos, incluidos los seres humanos, tienen una β-globulina plasmática que se une a la testosterona con especificidad, afinidad relativamente alta y capacidad limitada (cuadro 41-8). Esta proteína, por lo general denominada **globulina de unión a hormona sexual (SHBG)** o globulina de unión a testosterona-estrógeno (TEBG), se produce en el hígado. Su síntesis aumenta por los estrógenos (las mujeres tienen cifra sérica de SHBG dos veces mayor que los varones), ciertos tipos de enfermedad del hígado e hipertiroidismo, y se aminora por andrógenos, edad avanzada e hipotiroidismo. Muchos de estos estados o enfermedades también afectan la producción de CBG y TBG. Puesto que la SHBG y la albúmina se unen a 97 a 99% de la testosterona circulante, sólo una pequeña fracción de la hormona en la circulación se encuentra en la forma libre (que tiene actividad biológica). La función primaria de la SHBG tal vez sea restringir la concentración de testosterona libre en el suero. La testosterona se une a la SHBG con mayor afinidad que el estradiol (cuadro 41-8). Por consiguiente, un cambio de las cifras de SHBG suscita un mayor cambio de la concentración de testosterona libre que de la de estradiol libre.

Los estrógenos se unen a la SHBG, y las progestinas a la CBG. La SHBG se une al estradiol con avidez unas cinco veces menor que a la testosterona o a la DHT, mientras que la progesterona y el cortisol tienen poca afinidad por esta proteína (cuadro 41-8). En contraste, la progesterona y el cortisol se unen con afinidad casi igual a la CBG que, a su vez, tiene poca avidez por el estradiol, y avidez aún menor por la testosterona, DHT o estrona.

Estas proteínas de unión también proporcionan un reservorio circulante de hormona y debido a la capacidad de unión relativamente grande, probablemente amortiguan contra cambios repentinos de la concentración plasmática. Dado que los índices de depuración metabólica de estos esteroides guardan relación inversa con la afinidad de su unión a SHBG, la estrona se depura con mayor rapidez que el estradiol, que a su vez se depura más rápido que la testosterona o la DHT.

RESUMEN

- La presencia de un receptor especí co de ne las células blanco para una hormona dada.
- Los receptores son proteínas que se unen a hormonas especí cas y generan una señal intracelular (acoplamiento receptor-efector).
- Algunas hormonas tienen receptores intracelulares; otras se unen a receptores en la membrana plasmática.
- Las hormonas se sintetizan a partir de varias moléculas precursoras, entre ellas colesterol, tirosina en sí, y todos los aminoácidos que constituyen péptidos y proteínas.
- Varios procesos de modi cación alteran la actividad de las hormonas. Por ejemplo, muchas hormonas se sintetizan a partir de moléculas precursoras de mayor tamaño.
- La totalidad de enzimas en un tipo de célula particular permite la producción de una clase especí ca de hormona esteroide.
- Casi todas las hormonas solubles en lípido están unidas a proteínas de transporte en el plasma más bien especí cas.

REFERENCIAS

Bain DL et al: Nuclear receptor structure: implications for function. Ann Rev Physiol 2007;69:201.

Bartalina L: Thyroid hormone-binding proteins: update 1994. Endocr Rev 1994;13:140.

Beato M et al: Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. Cell 1995;83:851.

Dai G, Carrasco L, Carrasco N: Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. Nature 1996;379:458.

DeLuca HR: The vitamin D story: a collaborative effort of basic science and clinical medicine. FASEB J 1988;2:224.

Douglass J, Civelli O, Herbert E: Polyprotein gene expression: Generation of diversity of neuroendocrine peptides. Annu Rev Biochem 1984;53:665.

Farooqi IS, O'Rahilly S: Monogenic obesity in humans. Ann Rev Med 2005;56:443.

Miller WL: Molecular biology of steroid hormone biosynthesis. Endocr Rev 1988;9:295.

Nagatsu T: Genes for human catecholamine-synthesizing enzymes. Neurosci Res 1991;12:315.

Russell DW, Wilson JD: Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes. Annu Rev Biochem 1994;63:25.

Russell J et al: Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor mRNA in avian parathyroids. Endocrinology 1993;132:2639.

Steiner DF et al: The new enzymology of precursor processing endoproteases. J Biol Chem 1992;267:23435.

Taguchi A, White M: Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. Ann Rev Physiol 2008;70:191.

CAPÍTULO

42

Acción hormonal y transducción de señal

P. Anthony Weil, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las adaptaciones homeostáticas que un organismo hace a un ambiente en cambio constante se logran en gran parte por medio de alteraciones de la actividad y la cantidad de proteínas. Las hormonas proporcionan un importante medio para facilitar estos cambios. Una interacción entre hormona y receptor da por resultado la generación de una señal intracelular capaz de regular la actividad de un grupo selecto de genes, lo que altera la cantidad de ciertas proteínas en la célula blanco, o afecta la actividad de proteínas específicas, entre ellas enzimas y proteínas transportadoras o canal. La señal puede influir sobre la localización de proteínas en la célula, y afectar procesos generales como la síntesis de proteína, el crecimiento celular, y la replicación, quizá mediante efectos sobre la expresión de gen. Otras moléculas emisoras de señal —entre ellas citocinas, interleucinas, factores de crecimiento y metabolitos— usan algunos de los mismos mecanismos generales y vías de transducción de señal. La producción y liberación excesiva, deficiente o inapropiada de hormonas y de estas otras moléculas reguladoras son causas importantes de enfermedad. Muchos agentes farmacoterápicos se dirigen a corregir las vías que se comentan en este capítulo o por lo demás influir sobre las mismas.

LAS HORMONAS TRANSDUCEN SEÑALES PARA AFECTAR MECANISMOS HOMEOSTÁTICOS

La figura 42-1 ilustra los pasos generales incluidos en la producción de una respuesta coordinada a un estímulo particular. El estímulo puede ser un desafío o una amenaza para el organismo, para un órgano, o para la integridad de una célula única dentro de ese organismo. El reconocimiento del estímulo es el primer paso en la respuesta adaptativa. En el ámbito de organismo, esto por lo general involucra el sistema nervioso y los sentidos especiales (vista, audición, dolor, olfato, tacto). En el ámbito de organismo o célula, el reconocimiento comprende factores físico-químicos como pH, tensión de O_2, temperatura, aporte de nutriente, metabolitos nocivos y osmolaridad. El reconocimiento apropiado origina la liberación de una o más hormonas que regirán la generación de la respuesta adaptativa necesaria. Para propósitos de esta exposición, las hormonas se clasifican como se describió en el capítulo 41, es decir, con base en la localización de sus receptores celulares específicos y el tipo de señales generadas. Las hormonas del grupo I interactúan con un receptor intracelular, y las del grupo II, con sitios de reconocimiento de receptor localizados en la superficie extracelular de la membrana plasmática de las células blanco. Las citocinas, interleucinas y factores de crecimiento también deben considerarse en esta última categoría. Estas moléculas, de importancia crucial en la adaptación homeostática, son hormonas en el sentido de que se producen en células específicas; tienen el equivalente de acciones autocrina, paracrina y endocrina; se unen a receptores de superficie celular, y activan muchas de las mismas vías de transducción de señal empleadas por las hormonas del grupo II más tradicionales.

GENERACIÓN DE SEÑAL

El complejo de ligando-receptor es la señal para las hormonas del grupo I

Las hormonas del grupo I lipofílicas se difunden a través de la membrana plasmática de todas las células, pero sólo encuentran sus receptores intracelulares específicos, de alta afinidad, en células blanco. Estos receptores pueden estar ubicados en el citoplasma o en el núcleo de células blanco. El complejo de hormona-receptor primero pasa por una **reacción de activación.** El receptor se activa por medio de al menos dos mecanismos (fig. 42-2). Por ejemplo, los glucocorticoides se difunden a través de la membrana plasmática y encuentran su receptor cognado en el citoplasma de las células blanco. La unión de ligando y receptor causa un cambio de conformación en el receptor que conduce a la disociación de la proteína de choque por calor 90 (hsp90). Este paso parece ser necesario para la localización nuclear subsiguiente del receptor de glucocorticoide. Asimismo, este receptor contiene una secuencia de localización nuclear que ahora está libre para ayudar en la translocación desde el citoplasma hacia el núcleo. El receptor activado se mueve hacia el núcleo (fig. 42-2), y se une con alta afinidad a una secuencia de DNA específica denominada el **elemento de respuesta a hormona (HRE).** En el caso ilustrado, éste es un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). El cuadro 42-1 muestra secuencias de consenso para HRE. El receptor unido a DNA, con ligando, sirve como un sitio de unión de alta afinidad para una o más proteínas coactivadoras, y cuando esto ocurre típicamente sobreviene transcripción de gen acelerada. En contraste, ciertas hormonas, como las hormonas tiroideas y los retinoides, se difunden desde el líquido extracelular a través de la membrana plasmática, y van de manera directa hacia el núcleo. En este caso, el receptor cognado ya está unido al HRE (el elemento de respuesta a hormona tiroidea [TRE], en este ejemplo). Sin embargo, este receptor unido a DNA no activa transcripción porque existe en complejo con un correpresor. En realidad, este

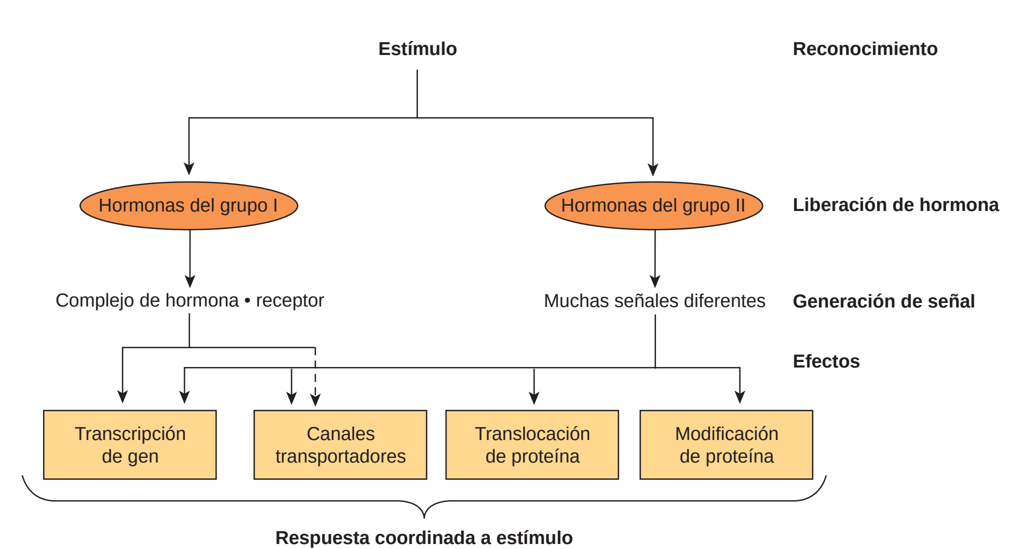


FIGURA 42-1 Participación hormonal en respuestas a un estímulo. Un desafío para la integridad del organismo desencadena una respuesta que incluye la liberación de una o más hormonas. Estas hormonas generan señales en células blanco o dentro de las mismas, y estas señales regulan diversos procesos biológicos que proporcionan una respuesta coordinada al estímulo o desafío. Véase un ejemplo específico en la figura 42-8.

complejo de receptor-correpresor sirve como un represor activo de la transcripción de gen. La asociación de ligando con estos receptores suscita disociación del o los correpresores. El receptor con ligando ahora tiene la capacidad para unirse a uno o más coactivadores con afinidad alta, lo que produce el reclutamiento de pol II + GTF, y

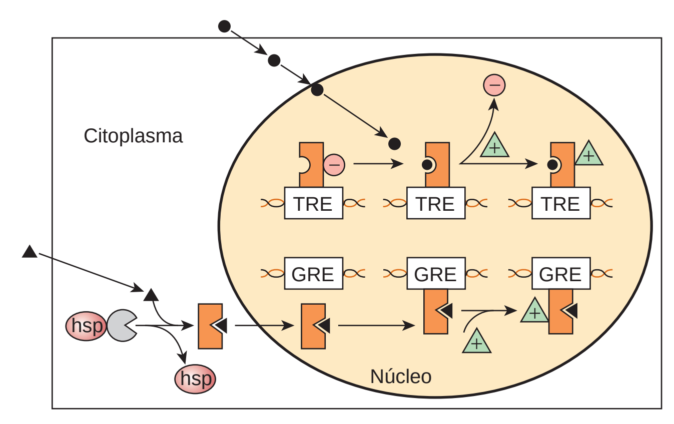


FIGURA 42-2 Regulación de la expresión de gen por medio de dos hormonas clase I diferentes, hormona tiroidea y glucocorticoides. Las hormonas esteroides tienen acceso con facilidad al compartimiento citoplásmico de las células blanco. Las hormonas glucocorticoides (triángulos negros) encuentran su receptor cognado (GR) en el citoplasma, donde el GR existe en un complejo con proteína de choque por calor 90 (hsp). La unión a ligando causa disociación de HSP y un cambio conformacional del receptor. El complejo de receptor-ligando a continuación atraviesa la membrana nuclear y se une al DNA con especificidad y con afinidad alta en un elemento de respuesta a glucocorticoide (GRE). Este evento afecta la estructura de varios correguladores de la transcripción (triángulos verdes), y a continuación hay transcripción aumentada. En contraste, las hormonas tiroideas y el ácido retinoico (•) entran de manera directa al núcleo, donde sus receptores heterodiméricos cognados (TR-RXR; fig. 42-12) ya están unidos a los elementos de respuesta apropiados con un complejo represor de la transcripción asociado (círculos rojos). Se unen la hormona y el receptor, lo que de nuevo induce cambios conformacionales que conducen a una reorganización de las interacciones entre receptor (TR) y corregulador (es decir, moléculas como N-CoR o SMRT [cuadro 42-6]). La unión a ligando suscita disociación entre el complejo represor y el receptor, lo que permite que se monte un complejo activador. A continuación el gen se transcribe de modo activo.

activación de la transcripción de gen. La relación de receptores de hormona con otros receptores nucleares y con correguladores se comenta con mayor detalle más adelante.

Al afectar de modo selectivo la transcripción de gen y la producción consiguiente de mRNA blanco apropiados, se cambian las cantidades de proteínas específicas, y se influye sobre los procesos metabólicos. La influencia de cada una de estas hormonas es bastante específica; en general, una hormona dada afecta a menos de 1% de los genes, el mRNA o las proteínas en una célula blanco; a veces sólo algunos quedan afectados. Las acciones nucleares de hormonas esteroides, tiroideas y retinoides están bastante bien definidas. Casi toda la evidencia sugiere que estas hormonas ejercen su efecto dominante sobre la modulación de la transcripción de gen,

CUADRO 42-1 Las secuencias de DNA de varios elementos de respuesta a hormona (HRE)[1]

Hormona o efector	HRE	Secuencia de DNA
Glucocorticoides Progestinas Mineralocorticoides Andrógenos	GRE PRE MRE ARE	GGTACA NNN TGTTCT ← →
Estrógenos	ERE	AGGTCA --- TGA/TCCT ← →
Hormona tiroidea Ácido retinoico Vitamina D	TRE RARE VDRE	AGGTCA N3, 4, 5 AGGTCA → →
cAMP	CRE	TGACGTCA

[1] Las letras indican nucleótido. N significa que cualquiera de los cuatro puede usarse en esa posición. Las flechas que apuntan en direcciones opuestas ilustran los palíndromos invertidos un poco imperfectos presentes en muchos HRE; en algunos casos éstos se llaman "medios sitios de unión" porque cada uno se une a un monómero del receptor. El GRE, PRE, MRE y ARE constan de la misma secuencia de DNA. La especificidad puede conferirse por la concentración intracelular del ligando o el receptor de hormona, por secuencias de DNA flanqueantes no incluidas en el consenso, o por otros elementos accesorios. Un segundo grupo HRE comprende los destinados a hormonas tiroideas, estrógenos, ácido retinoico y vitamina D. Estos HRE son similares excepto por la orientación y el espaciamiento entre los medios palíndromos. El espaciamiento determina la especificidad para hormona. VDRE (N = 3), TRE (N = 4) y RARE (N = 5) se unen a repeticiones directas más que a repeticiones invertidas. Otro miembro de la subfamilia de receptor de esteroide, el receptor X retinoide (RXR), forma heterodímeros con VDR, TR, y RARE, y éstos constituyen las formas funcionales de estos factores de acción *trans*. El cAMP afecta la transcripción de gen por medio del CRE.

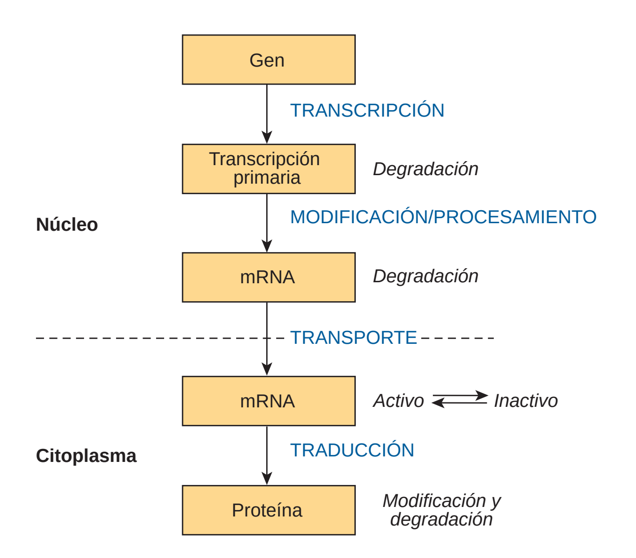


FIGURA 42-3 La "vía de la información". La información fluye desde el gen hacia la transcripción primaria, hacia mRNA, y hacia proteína. Las hormonas pueden afectar cualquiera de los pasos comprendidos, y los índices de procesamiento, degradación o modificación de los diversos productos.

pero ellas —y muchas de las hormonas de las otras clases que se comentan más adelante— pueden actuar en cualquier paso de la "vía de información" (fig. 42-3) para controlar la expresión de gen específica y, por último, una respuesta biológica. También se han descrito las acciones directas de esteroides en el citoplasma y sobre varios organelos y membranas. De manera reciente, los microRNA han quedado implicados en la mediación de algunas de las diversas acciones de la hormona peptídica insulina.

LAS HORMONAS DEL GRUPO II (PÉPTIDO Y CATECOLAMINA) TIENEN RECEPTORES DE MEMBRANA Y USAN MENSAJEROS INTRACELULARES

Muchas hormonas son hidrosolubles, carecen de proteínas de transporte (y, en consecuencia, tienen una vida media plasmática breve), e inician una respuesta al unirse a un receptor ubicado en la membrana plasmática (cuadros 41-3 y 41-4). El mecanismo de acción de este grupo de hormonas es más comprensible en términos de las **señales intracelulares** que generan, las cuales incluyen cAMP (AMP cíclico; ácido 3′,5′-adenílico; fig. 19-5), un nucleótido derivado de ATP mediante la acción de la adenilil ciclasa; cGMP, un nucleótido formado por la guanilil ciclasa; Ca^{2+}, y fosfatidilinositidas; esas moléculas se llaman segundos mensajeros dado que su síntesis es desencadenada por la presencia de la hormona primaria (molécula) que se une a su receptor. Muchos de estos segundos mensajeros afectan la transcripción de gen, como se describió en el párrafo previo, pero también influyen sobre varios otros procesos biológicos (fig. 42-3).

Receptores acoplados a proteína G (GPCR)

Muchas de las hormonas del grupo II se unen a receptores que se acoplan a efectores por medio de una proteína de unión a GTP intermediaria. Estos receptores de manera típica tienen siete dominios hidrofóbicos que abarcan la membrana plasmática. Esto se ilustra en la figura 42-4 por los siete cilindros interconectados que se extienden a través de la bicapa lipídica. Los receptores de esta clase, que emiten señales mediante intermediarios de proteína unida a nu-

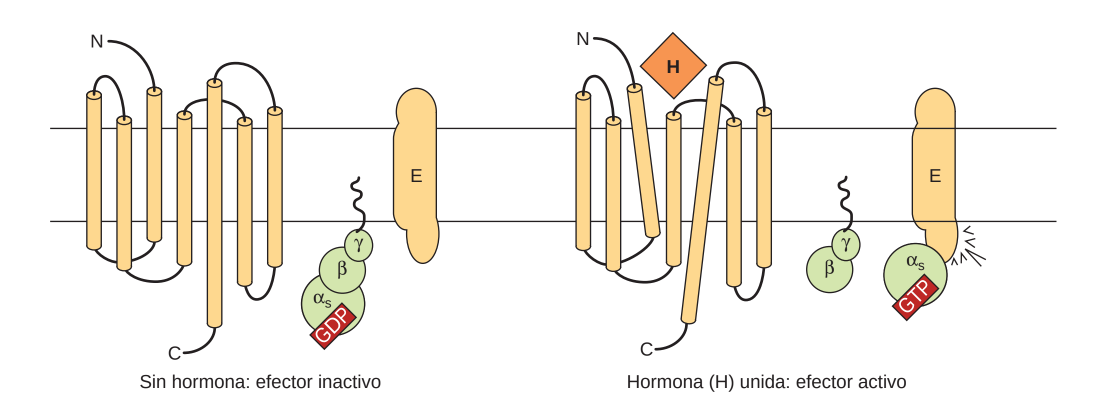


FIGURA 42-4 Componentes del sistema efector de receptor de hormona-proteína G. Los receptores que se acoplan a efectores mediante proteínas G (GPCR) típicamente tienen 7 dominios que abarcan la membrana. En ausencia de hormona **(izquierda)**, el complejo de proteína G heterotrimérico (α, β, γ) se encuentra en una forma inactiva unida a guanosín difosfato (GDP), y probablemente no está asociado con el receptor. Este complejo está fijo a la membrana plasmática por medio de grupos prenilados en las subunidades βγ **(líneas onduladas)**, y tal vez mediante grupos miristoilados sobre subunidades α (que no se muestran). En el momento de unión de hormona (H) al receptor, hay un cambio conformacional supuesto del receptor —según se indica por los dominios que abarcan la membrana inclinados— y activación del complejo de proteína G. Esto produce el intercambio de GDP con guanosín trifosfato (GTP) sobre la subunidad α, después de lo cual α y βγ se disocian. La subunidad α se une al efector (E) y lo activa. E puede ser adenilil ciclasa, canales de Ca^{2+}, Na^{+} o Cl^{-} (α_s), o podría ser un canal de K^{+} (α_i), fosfolipasa Cβ (α_q) o cGMP fosfodiesterasa (α_t). Asimismo, la subunidad βγ puede tener acciones directas sobre E. (Modificada y reproducida, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism,* 2nd ed. Becker KL [editor]. Lippincott, 1995.)

cleótido guanina, se conocen como **receptores acoplados a proteína G** o **GPCR**. Hasta la fecha, se han identificado cientos de genes que codifican para receptor enlazado a proteína G; esto representa la familia de mayor tamaño de receptores de superficie celular en seres humanos. Una amplia variedad de respuestas está mediada por GPCR.

El cAMP es la señal intracelular para muchas respuestas

El AMP cíclico fue la primera señal intracelular identificada en células de mamífero. Varios componentes comprenden un sistema para la generación, degradación y acción del cAMP.

Adenilil ciclasa

Diferentes hormonas peptídicas pueden estimular (s) o inhibir (i) la producción de cAMP a partir de la adenilil ciclasa, que está codificada por al menos nueve genes diferentes (cuadro 42-2). Dos sistemas paralelos, uno estimulador (s) y uno inhibitorio (i), convergen sobre una molécula catalítica (C). Cada uno consta de un receptor, R_s o R_i, y un complejo regulador, G_s y G_i. G_s y G_i son, cada uno, trímeros compuestos de subunidades α, β y γ. Puesto que la subunidad α en G_s difiere de la que hay en G_i, las proteínas, que son productos de gen separados, se designan α_s y α_i. Las subunidades α se unen a nucleótidos guanina. Las subunidades β y γ siempre están asociadas (βγ) y parecen funcionar como un heterodímero. La unión de una hormona a R_s o R_i ocasiona una activación de G mediada por receptor, lo que implica el intercambio de GDP por GTP en α, y la disociación concomitante de βγ desde α.

La proteína α_s tiene actividad de GTPasa intrínseca. La forma activa, α_s·GTP, es inactivada en el momento de la hidrólisis del GTP hacia GDP; el complejo G_s trimérico (αβγ) a continuación vuelve a formarse y está listo para otro ciclo de activación. Las toxinas del cólera y diftérica catalizan la ADP ribosilación de α_s y $\alpha_{i\text{-}2}$ (cuadro 42-3), respectivamente. En el caso de α_s, esta modificación altera la actividad de GTPasa intrínseca; así, α_s no puede reasociarse con βγ y, por ende, se activa de manera irreversible. La ADP ribosilación de $\alpha_{i\text{-}2}$ evita la disociación entre $\alpha_{i\text{-}2}$ y βγ, y de este modo, no puede formarse la $\alpha_{i\text{-}2}$ libre. Por consiguiente, la actividad de α_s en esas células no tiene oposición.

CUADRO 42-2 Subclasificación de las hormonas del grupo II.A

Hormonas que estimulan a la adenilil ciclasa (H_s)	Hormonas que inhiben a la adenilil ciclasa (H_I)
ACTH	Acetilcolina
ADH	α_2-adrenérgicos
β-adrenérgicos	Angiotensina II
Calcitonina	Somatostatina
CRH	
FSH	
Glucagon	
hCG	
LH	
LPH	
MSH	
PTH	
TSH	

Hay una familia grande de proteínas G, y éstas forman parte de la superfamilia de GTPasas. La familia de la proteína G se clasifica de acuerdo con la homología de secuencia en cuatro subfamilias (cuadro 42-3). Hay 21 genes que codifican para la subunidad α, cinco que codifican para la subunidad β y ocho que codifican para la subunidad γ. Diversas combinaciones de estas subunidades proporcionan un número grande de posibles complejos de αβγ y ciclasa.

Las subunidades α y el complejo βγ tienen acciones independientes de las que ocurren sobre la adenilil ciclasa (fig. 42-4 y cuadro 42-3). Algunas formas de α_i estimulan a los canales de K^+ e inhiben a los de Ca^{2+}, y algunas moléculas de α_s tienen los efectos opuestos. Los miembros de la familia G_q activan al grupo de enzimas fosfolipasa C. Los complejos βγ se han asociado con la estimulación de canal de K^+ y la activación de fosfolipasa C. Las proteínas G participan en muchos procesos biológicos importantes además de acción hormonal. Los ejemplos notables son olfación (α_{OLF}) y visión (α_t). El cuadro 42-3 lista algunos ejemplos. Los GPCR están implicados en varias enfermedades y son blancos importantes para agentes farmacológicos.

Proteína cinasa

En células procarióticas, el cAMP se une a una proteína específica denominada proteína reguladora de catabolito (CRP) que se une de manera directa al DNA e influye sobre la expresión de gen. En células eucarióticas, el cAMP se une a una proteína cinasa llamada **proteína cinasa A (PKA)**, una molécula heterotetramérica que consta de dos subunidades reguladoras (R) y dos subunidades catalíticas (C). La unión a cAMP se traduce en la reacción que sigue:

$$4\ \text{cAMP} + R_2C_2 \rightleftarrows R_2\ (4\ \text{cAMP}) + 2C$$

El complejo R_2C_2 carece de actividad enzimática, pero la unión de cAMP por R induce disociación del complejo C-R, lo que activa a este último (fig. 42-5). La subunidad C activa cataliza la transferencia del fosfato γ del ATP hacia un residuo serina o treonina en diversas proteínas. Los sitios de fosforilación de consenso son Arg Arg/Lis-X-Ser/Tre- y -Arg-Lis-X-X-Ser-, donde X puede ser cualquier aminoácido.

Las actividades de la proteína cinasa originalmente se describieron como "dependientes de cAMP" o "independientes de cAMP". Esta clasificación ha cambiado, dado que la fosforilación de proteína ahora se reconoce como un importante mecanismo regulador. Ahora se han descrito varios cientos de proteínas cinasas. Las cinasas muestran vínculo en secuencia y estructura dentro del dominio catalítico, pero cada una tiene una molécula singular con considerable variabilidad acerca de la composición de subunidad, peso molecular, autofosforilación, K_m para ATP, y especificidad de sustrato. Las actividades tanto de cinasa como de proteína fosfatasa pueden dirigirse por medio de interacción con proteínas de unión a cinasa específicas. En el caso de la PKA, esas proteínas de dirección se denominan **proteínas fijadoras de cinasa A (AKAP)**, sirven como

CUADRO 42-3 Clases y funciones de proteínas G seleccionadas[1]

Clase o tipo	Estímulo	Efector	Efecto
G_s			
α_s	Glucagon, β-adrenérgicos	↑Adenilil ciclasa ↑Canales de Ca^{2+}, Cl^- y Na^+ cardiacos	Gluconeogénesis, lipólisis, glucogenólisis
α_{olf}	Odorante	↑Adenilil ciclasa	Olfación
G_i			
$\alpha_{i\text{-}1,2,3}$	Acetilcolina, α_2-adrenérgicos	↓Adenilil ciclasa ↑Canales de potasio	Frecuencia cardiaca lentificada
	Colinérgicos M_2	↓Canales de calcio	
α_0	Opioides, endorfinas	↑Canales de potasio	Actividad eléctrica neuronal
α_t	Luz	↑cGMP fosfodiesterasa	Visión
G_q			
α_q	Colinérgicos M_1 α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β1	↓Contracción muscular y
α_{11}	α_1-adrenérgicos	↑Fosfolipasa C-β2	↓Presión arterial
G_{12}			
α_{12}	?	Canal de Cl^-	?

Fuente: modificado y reproducido, con autorización, de Granner DK en: *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism,* 2nd ed. Becker KL (editor). Lippincott, 1995.
[1]Las cuatro clases principales de familias de proteínas G de mamífero (G_s, G_i, G_q, y G_{12}) se basan en la homología de secuencia de proteína. Se muestran los miembros representativos de cada una, junto con estímulos, efectores y efectos fisiológicos bien definidos, conocidos. Se han identificado nueve isoformas de adenilil ciclasa (isoformas I a IX). Todas las isoformas son estimuladas por α_s; las isoformas α_i inhiben los tipos V y VI, y α_0 inhibe los tipos I y V. Se han identificado por lo menos 16 subunidades α diferentes.

andamios, que localizan la PKA cerca de sustratos, lo que enfoca la actividad de PKA hacia sustratos fisiológicos y facilita la regulación biológica espaciotemporal, mientras que también permite que proteínas comunes, compartidas, desencadenen respuestas fisiológicas específicas. Han sido descritas múltiples AKAP; pueden unirse a la PKA y otras cinasas, así como a fosfatasas, fosfodiesterasas (que hidrolizan el cAMP) y sustratos de proteína cinasa.

Fosfoproteínas

Se cree que todos los efectos del cAMP en células eucarióticas están mediados por fosforilación-desfosforilación de proteína, de manera particular sobre residuos serina y treonina. El control de cualquiera de los efectos del cAMP, incluso procesos tan diversos como la esteroidogénesis, secreción, transporte de ion, metabolismo de carbohidrato y grasa, inducción de enzima, regulación de gen, transmisión sináptica, y crecimiento y replicación celulares, podría ser conferido por una proteína cinasa específica, por una fosfatasa específica, o por sustratos específicos para fosforilación. Estos sustratos ayudan a definir un tejido blanco, y están involucrados en la definición de la magnitud de una respuesta particular dentro de una célula dada. Por ejemplo, los efectos del cAMP sobre la transcripción de gen están mediados por la **proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (CREB)**. La CREB se une al elemento con capacidad de respuesta a cAMP (CRE) (cuadro 42-1) en su estado no fosfori-

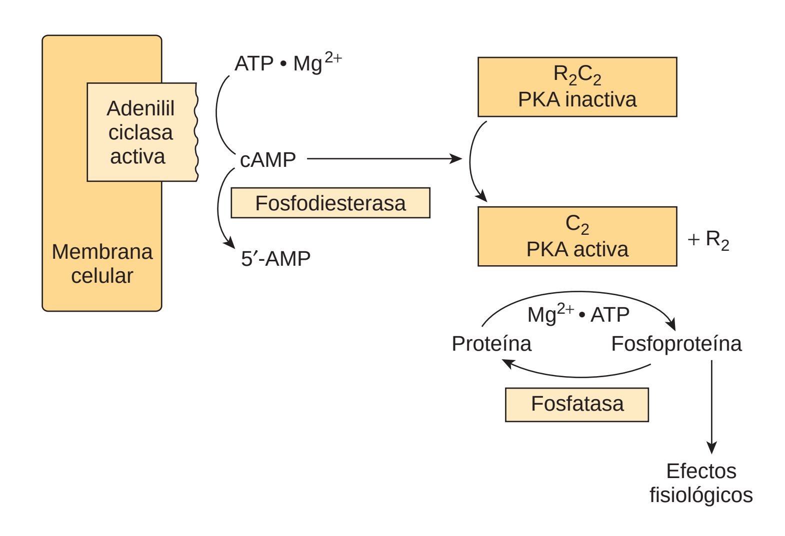


FIGURA 42-5 Regulación hormonal de procesos celulares por medio de la proteína cinasa dependiente de cAMP (PKA). La PKA existe en una forma inactiva como un heterotetrámero R_2C_2 que consta de dos subunidades reguladoras y dos catalíticas. El cAMP generado mediante la acción de la adenilil ciclasa (activada como se muestra en la fig. 42-4) se une a la subunidad reguladora (R) de la PKA. Esto ocasiona la disociación de las subunidades reguladora y catalítica, y activación de esta última. Las subunidades catalíticas activas fosforilan varias proteínas blanco sobre residuos serina y treonina. Las fosfatasas eliminan fosfato de estos residuos y, así, terminan la respuesta fisiológica. Una fosfodiesterasa también puede terminar la respuesta al convertir cAMP en 5'-AMP.

lado y es un activador débil de la transcripción. Cuando es fosforilada por PKA, la CREB se une al coactivador **proteína de unión a CREB CBP/p300** (véase más adelante) y como resultado es un activador mucho más potente de la transcripción. La CBP y la p300 relacionada contienen actividades de histona acetiltransferasa y, por tanto, sirven como correguladores transcripcionales activos de la cromatina (caps. 36 y 38). Es interesante que la CBP/p300 también puede acetilar ciertos factores de transcripción, lo que estimula su capacidad para unirse a DNA y modular la transcripción.

Fosfodiesterasas

Las acciones producidas por hormonas que aumentan la concentración de cAMP pueden terminarse de diversos modos, entre ellos la hidrólisis de cAMP hacia 5′-AMP mediante fosfodiesterasas (fig. 42-5). La presencia de estas enzimas hidrolíticas asegura un recambio veloz de la señal (cAMP) y, en consecuencia, una terminación rápida del proceso biológico una vez que se elimina el estímulo hormonal. Hay al menos 11 miembros conocidos de la familia de enzimas fosfodiesterasa, los cuales encuentran sujetos a regulación por sus sustratos, cAMP y cGMP; por hormonas, y por mensajeros intracelulares, como calcio, que probablemente actúan por medio de la calmodulina. Los inhibidores de la fosfodiesterasa, entre los que destacan los derivados de xantina metilados, como la cafeína, incrementan el cAMP intracelular e imitan o prolongan las acciones de hormonas mediante esta señal.

Fosfoproteína fosfatasas

Dada la importancia de la fosforilación de proteína, no sorprende que la regulación de la reacción de desfosforilación de proteína sea otro mecanismo de control importante (fig. 42-5). Las fosfoproteína fosfatasas están sujetas por sí mismas a regulación por medio de reacciones de fosforilación-desfosforilación, y por varios otros mecanismos, como interacciones entre una proteína y otra. De hecho, la especificidad de sustrato de las fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas tal vez esté dictada por subunidades reguladoras distintas cuya unión está regulada de manera hormonal. Una de las funciones mejor estudiadas de la regulación mediante la desfosforilación de proteínas es la del metabolismo de glucógeno en el músculo. Se han descrito dos tipos principales de fosfoserina-fosfotreonina fosfatasas. El tipo I desfosforila de preferencia la subunidad β de la fosforilasa cinasa, mientras que el tipo II desfosforila la subunidad α. La fosfatasa tipo I está implicada en la regulación de la glucógeno sintasa, fosforilasa y fosforilasa cinasa. Esta fosfatasa en sí está regulada por medio de fosforilación de algunas de sus subunidades, y estas reacciones se revierten mediante la acción de una de las fosfatasas tipo II. Además, dos inhibidores de proteína termoestables regulan la actividad de la fosfatasa tipo I. Proteínas cinasas dependientes de cAMP fosforilan y activan al inhibidor-1; el inhibidor-2, que puede ser una subunidad de la fosfatasa inactiva, también es fosforilado, posiblemente por la glucógeno sintasa cinasa-3. Asimismo, las fosfatasas que atacan la fosfotirosina tienen importancia en la transducción de señal (fig. 42-8).

El cGMP también es una señal intracelular

El GMP cíclico se sintetiza a partir del GTP por medio de la enzima guanilil ciclasa, que existe en formas soluble y unida a membrana. Cada una de estas isozimas tiene propiedades fisiológicas singulares. Las atriopeptinas, una familia de péptidos producida en tejidos auriculares del corazón, originan natriuresis, vasodilatación e inhibición de la secreción de aldosterona. Estos péptidos (p. ej., factor natriurético auricular) se unen a la forma unida a membrana de la guanilil ciclasa, y la activan. Esto causa un aumento del cGMP en algunos casos de hasta 50 veces, y se cree que esto media los efectos mencionados. Otra evidencia enlaza al cGMP con vasodilatación. Una serie de compuestos, entre ellos nitroprusiato, nitroglicerina, óxido nítrico, nitrito de sodio y azida de sodio, suscitan relajación de músculo liso y son potentes vasodilatadores. Estos agentes incrementan el cGMP al activar la forma soluble de la guanilil ciclasa, y los inhibidores de la cGMP fosfodiesterasa (p. ej., el fármaco sildenafil [Viagra]) aumentan estas respuestas y las prolongan. El cGMP incrementado activa a la proteína cinasa dependiente de cGMP (PKG) que, a su vez, fosforila diversas proteínas del músculo liso. Es probable que esto participe en la relajación del músculo liso y en la vasodilatación.

Varias hormonas actúan mediante calcio o fosfatidilinositoles

El calcio ionizado es un importante regulador de diversos procesos celulares, entre ellos la contracción muscular, el acoplamiento entre estímulo y secreción, la cascada de coagulación de la sangre, actividad enzimática y excitabilidad de membrana. También es un mensajero intracelular de la acción de hormona.

Metabolismo del calcio

La concentración extracelular de calcio (Ca^{2+}) es de alrededor de 5 mmol/L y está controlada de modo muy rígido. Aun cuando cantidades considerables de calcio están asociadas con organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplásmico, la concentración intracelular de calcio (Ca^{2+}) libre o ionizado es muy baja: 0.05 a 10 μmol/L. A pesar de este gradiente de concentración grande y un gradiente eléctrico transmembrana favorable, la entrada del Ca^{2+} a la célula está restringida. Se gasta una considerable cantidad de energía para asegurar que el Ca^{2+} intracelular esté controlado, puesto que un aumento prolongado del Ca^{2+} en la célula es muy tóxico. Un mecanismo de intercambio de Na^+/Ca^{2+} que tiene una capacidad alta pero afinidad baja bombea Ca^{2+} hacia afuera de las células. Asimismo, hay una bomba de Ca^{2+}/protón dependiente de ATPasa que extrude Ca^{2+} en intercambio por H^+. Esto tiene afinidad alta por el Ca^{2+}, pero capacidad baja, y probablemente se encarga del ajuste fino del Ca^{2+} citosólico. Más aún, las Ca^{2+}-ATPasas bombean Ca^{2+} desde el citosol hacia la luz del retículo endoplásmico. Hay tres maneras de cambiar el Ca^{2+} citosólico: 1) ciertas hormonas (clase II.C, cuadro 41-3), al unirse a receptores que son ellos mismos canales de Ca^{2+}, incrementan la permeabilidad de la membrana a Ca^{2+} y, de este modo, aumentan el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 2) Las hormonas también promueven de manera indirecta el flujo de Ca^{2+} hacia adentro al modular el potencial de membrana en la membrana plasmática. La despolarización de membrana abre canales de Ca^{2+} activados por voltaje, y permite el flujo de Ca^{2+} hacia adentro. 3) El Ca^{2+} puede movilizarse desde el retículo endoplásmico y posiblemente desde fondos comunes mitocondriales.

Una observación importante que enlaza el Ca^{2+} con la acción de hormona involucró la definición de blancos intracelulares de la acción del Ca^{2+}. El descubrimiento de un regulador de la actividad

de fosfodiesterasa dependiente de Ca^{2+} proporcionó la base para un entendimiento amplio de cómo el Ca^{2+} y el cAMP interactúan dentro de las células.

Calmodulina

Es la proteína reguladora dependiente del calcio, proteína de 17-kDa homóloga en estructura y función a la proteína muscular troponina C. La calmodulina tiene cuatro sitios de unión a Ca^{2+}, y la ocupación completa de estos sitios da pie a un notorio cambio conformacional, que permite que la calmodulina active enzimas y canales de ion. La interacción entre Ca^{2+} y calmodulina (con el cambio de actividad resultante de esta última) es similar desde el punto de vista conceptual a la unión del cAMP a PKA y la activación subsiguiente de esta molécula. La calmodulina puede ser una de muchas subunidades de proteínas complejas y participa de forma especial en la regulación de diversas cinasas y enzimas de generación y degradación de nucleótido cíclico. El cuadro 42-4 presenta una lista parcial de las enzimas reguladas de modo directo o indirecto por el Ca^{2+}, probablemente por medio de la calmodulina.

Además de sus efectos sobre enzimas y sobre el transporte de ion, el Ca^{2+}/calmodulina regula la actividad de muchos elementos estructurales en las células. Entre ellos se incluyen el complejo de actina-miosina del músculo liso, que está bajo control β-adrenérgico, y diversos procesos mediados por microfilamento en células no contráctiles, entre ellos la motilidad celular, cambios de conformación de célula, mitosis, liberación de gránulos, y endocitosis.

El calcio es un mediador de la acción hormonal

Una función del Ca^{2+} en la acción hormonal es sugerida por la observación de que el efecto de muchas hormonas: 1) es disminuido por medios libres de Ca^{2+} o cuando el calcio intracelular se agota; 2) puede imitarse mediante agentes que incrementan el Ca^{2+} citosólico, como el ionóforo de Ca^{2+} A23187, y 3) influye sobre el flujo de calcio celular. La regulación del metabolismo del glucógeno en el hígado por medio de la vasopresina y catecolaminas β-adrenérgicas proporciona un buen ejemplo. Esto se muestra de manera esquemática en las figuras 19-6 y 19-7.

CUADRO 42-4 Enzimas y proteínas reguladas por calcio o calmodulina

Adenilil ciclasa
Proteínas cinasas dependientes de Ca^{2+}
Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPasa
Proteína cinasa dependiente de Ca^{2+}-fosfolípido
Nucleótido cíclico fosfodiesterasa
Algunas proteínas citoesqueléticas
Algunos canales de ion (p. ej., canales de calcio tipo L)
Óxido nítrico sintasa
Fosforilasa cinasa
Fosfoproteína fosfatasa 2B
Algunos receptores (p. ej., receptor de glutamato tipo NMDA)

Diversas enzimas metabólicas cruciales se regulan mediante Ca^{2+}, fosforilación, o ambos, entre ellas la glucógeno sintasa, piruvato cinasa, piruvato carboxilasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa y piruvato deshidrogenasa.

El metabolismo de la fosfatidilinositida afecta la acción de hormonas dependientes de Ca^{2+}

Alguna señal debe proporcionar comunicación entre el receptor de hormona en la membrana plasmática y los reservorios de Ca^{2+} intracelular. Esto se logra por medio de productos del metabolismo del fosfatidilinositol. Los receptores de superficie celular, como los receptores para acetilcolina, hormona antidiurética y catecolaminas tipo α_1 son, cuando están ocupados por sus ligandos respectivos, potentes activadores de la fosfolipasa C. La unión a receptor y la activación de fosfolipasa C están acopladas mediante las isoformas G_q (cuadro 42-3 y fig. 42-6). La fosfolipasa C cataliza la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato hacia inositol trifosfato (IP_3) y 1,2-diacilglicerol (fig. 42-7). El diacilglicerol en sí tiene la capacidad para activar a la **proteína cinasa C (PKC)**, cuya actividad también depende de Ca^{2+}. El IP_3, al interactuar con un receptor intracelular específico, es un liberador eficaz de Ca^{2+} desde sitios de almacenamiento intracelulares en el retículo endoplásmico. Así, la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato lleva a la activación de PKC y promueve un aumento del Ca^{2+} citoplásmico. Asimismo, la activación de las proteínas G puede tener una acción directa sobre los canales de Ca^{2+} (fig. 42-4). Los incrementos resultantes del Ca^{2+} citosólico activan cinasas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina y muchas otras enzimas dependientes de Ca^{2+}-calmodulina.

Los agentes esteroidogénicos, entre ellos ACTH y cAMP en la corteza suprarrenal; la angiotensina II, el K^+, la serotonina, ACTH y cAMP en la zona glomerulosa de las suprarrenales; la LH en los ovarios, y la LH y el cMAP en las células de Leydig de los testículos, se han relacionado con cantidades aumentadas de ácido fosfatídico, fosfatidilinositol, y polifosfoinositidas (cap. 15) en los tejidos blanco respectivos. Podrían citarse varios otros ejemplos.

La figura 42-6 presenta las funciones que el Ca^{2+} y los productos de desintegración de la polifosfoinositida podrían tener en la acción hormonal. En este esquema, la proteína cinasa C activada es capaz de fosforilar sustratos específicos, que después alteran procesos fisiológicos. De igual modo, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas. Éstas a continuación modifican sustratos y, de esta manera, alteran respuestas fisiológicas.

Algunas hormonas actúan por medio de una cascada de proteína cinasa

Proteínas cinasas únicas, como PKA, PKC y Ca^{2+}-calmodulina (CaM)-cinasas, que producen fosforilación de los residuos serina y treonina en proteínas blanco, tienen una participación muy importante en la acción de hormonas. El descubrimiento de que el receptor de EGF contiene una actividad de tirosina cinasa intrínseca que es activada mediante la unión del ligando EGF, fue un avance importante. Los receptores de insulina y de IGF-1 también contienen actividad intrínseca de tirosina cinasa activada por ligando. Varios receptores —en general los que participan en la unión de ligandos involucrados en el control del crecimiento, la diferenciación y la respuesta inflamatoria— tienen actividad intrínseca de tirosina cinasa

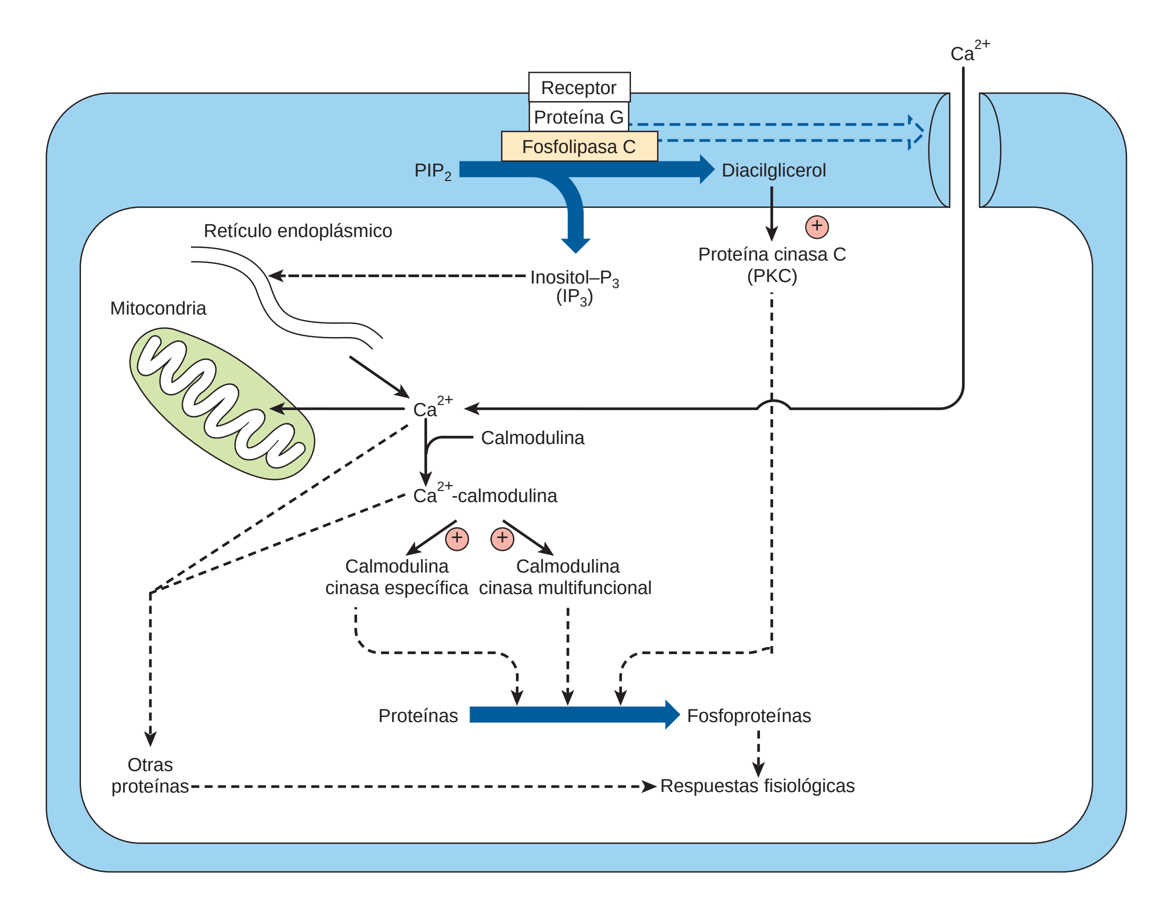


FIGURA 42-6 Ciertas interacciones entre hormona y receptor se traducen en la activación de la fosfolipasa C. Esto parece incluir una proteína G específica, que también puede activar un canal de calcio. La fosfolipasa C da por resultado la generación de trifosfato de inositol (IP_3), que libera Ca^{2+} intracelular almacenado, y diacilglicerol (DAG), un potente activador de la proteína cinasa C (PKC). En este esquema, la PKC activada fosforila sustratos específicos, que luego alteran procesos fisiológicos. De igual manera, el complejo de Ca^{2+}-calmodulina puede activar cinasas específicas, dos de las cuales se muestran aquí. Estas acciones originan fosforilación de sustratos, y esto da pie a respuestas fisiológicas alteradas. Asimismo, esta figura muestra que el Ca^{2+} puede entrar a las células a través de canales de Ca^{2+} activados por voltaje o por ligando. El Ca^{2+} intracelular también está regulado por medio de almacenamiento y liberación por las mitocondrias y el retículo endoplásmico. (Cortesía de JH Exton.)

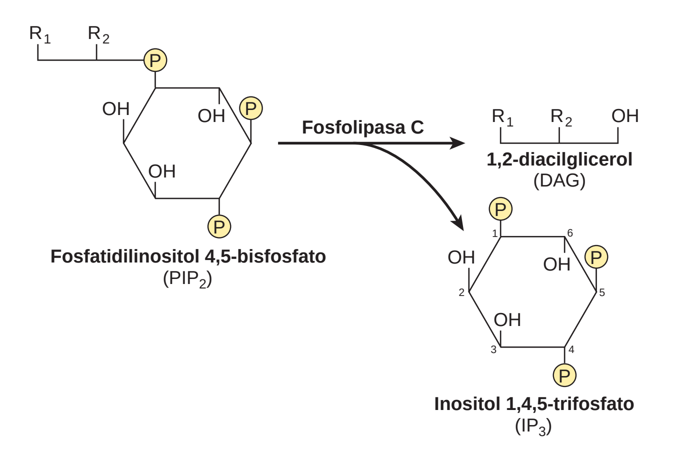


FIGURA 42-7 La fosfolipasa C divide el PIP_2 hacia diacilglicerol y trifosfato de inositol. R_1 generalmente es estearato, y R_2 por lo general es araquidonato. IP_3 se puede desfosforilar (hacia el I-1,4-P_2 inactivo) o fosforilar (hacia el I-1,3,4,5-P_4 en potencia activo).

o muestran vínculo con proteínas que son tirosina cinasas. Otra característica distintiva de esta clase de acción hormonal es que estas cinasas fosforilan de preferencia residuos tirosina, y la fosforilación de tirosina es poco frecuente (< 0.03% de la fosforilación total de aminoácidos) en células de mamífero. Una tercera característica distintiva es que la interacción entre ligando y receptor que ocasiona un evento de fosforilación de tirosina inicia una cascada que puede comprender varias proteínas cinasas, fosfatasas y otras proteínas reguladoras.

La insulina transmite señales por medio de varias cascadas de cinasa

Los receptores de insulina, factor de crecimiento epidérmico (EGF) e IGF-I tienen actividades intrínsecas de proteína tirosina cinasa localizadas en sus dominios citoplásmicos. Estas actividades son estimuladas cuando el receptor se une a ligando. Los receptores a continuación se autofosforilan en residuos tirosina y esto inicia una

compleja serie de eventos (que se resumen en forma simplificada en la fig. 42-8). El receptor de insulina fosforilado a continuación fosforila sustratos de receptor de insulina (hay por lo menos cuatro de estas moléculas, llamadas IRS 1 a 4) sobre residuos tirosina. El IRS fosforilado se une a los dominios de homología Src 2 (SH2) de diversas proteínas que participan de modo directo en la mediación de diferentes efectos de la insulina. Una de estas proteínas, la PI-3 cinasa, enlaza la activación del receptor de insulina con acción de insulina mediante la activación de diversas moléculas, entre ellas la cinasa dependiente de fosfoinositida-1 (PDK1). Esta enzima propaga la señal a través de varias otras cinasas, entre ellas PKB (akt), SKG y aPKC (véanse las definiciones y el significado de las abreviaturas en el pie de la fig. 42-8). Una vía alternativa corriente abajo desde PKD1 incluye p70S6K, y quizá otras cinasas aún no identificadas. Una segunda vía importante comprende mTOR, enzima que está regulada de manera directa por las concentraciones de aminoácidos e insulina, y es esencial para la actividad de p70S6K. Esta vía proporciona una distinción entre las ramas de PKB y p70S6K corriente abajo desde PKD1. Tales vías participan en la translocación de proteína, la actividad de enzima y la regulación, por medio de insulina, de genes involucrados en el metabolismo (fig. 42-8). Otra proteína que contiene dominio SH2 es la GRB2, que se une a IRS-1 y enlaza la fosfo-

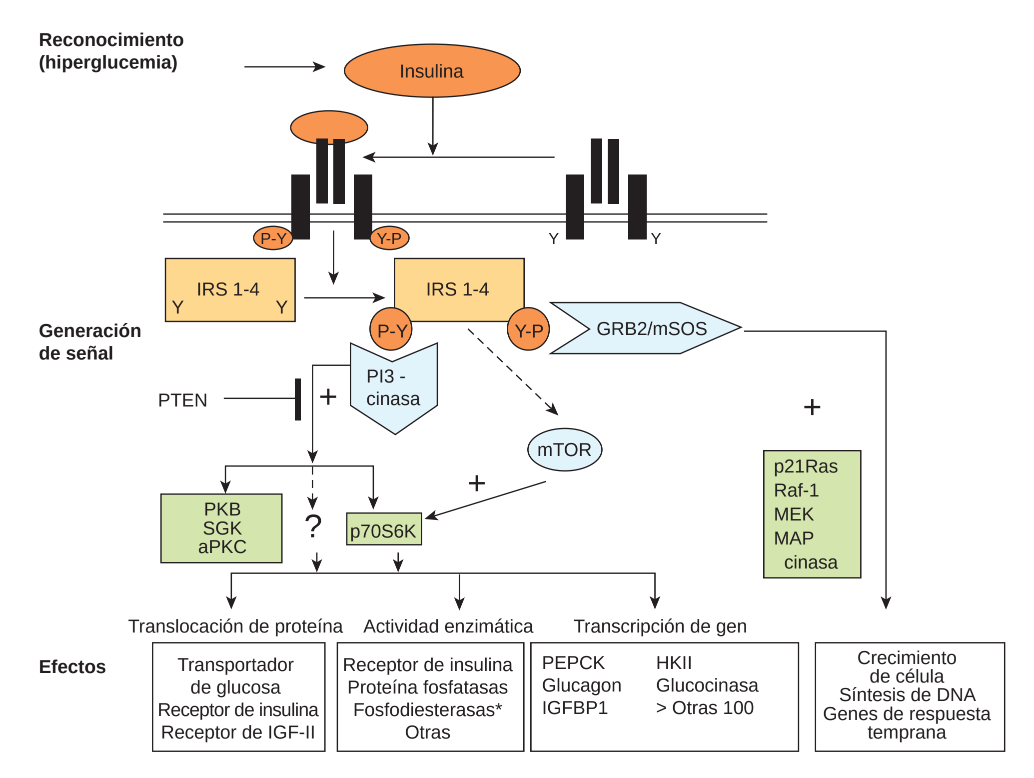


FIGURA 42-8 Vías de emisión de señales de la insulina. Las vías de emisión de señales de insulina proporcionan un excelente ejemplo del paradigma de "reconocimiento → liberación de hormona → generación de señal → efectos" esbozado en la figura 42-1. La insulina se libera en respuesta a hiperglucemia. La unión de insulina a un receptor de membrana plasmática específico para célula blanco causa una cascada de eventos intracelulares. La estimulación de la actividad intrínseca de tirosina cinasa del receptor de insulina marca el evento inicial, lo que suscita fosforilación incrementada de tirosina (Y) (Y → Y-P) del receptor, y después una o más de las moléculas de sustrato receptor de insulina (IRS 1 a 4). Este aumento de la fosfotirosina estimula la actividad de muchas moléculas intracelulares como GTPasas, proteínas cinasas y lípido cinasas, todas las cuales participan en ciertas acciones metabólicas de la insulina. Se muestran las dos vías mejor descritas. En primer lugar, la fosforilación de una molécula de IRS (probablemente IRS-2) produce acoplamiento y activación de la lípido cinasa, PI-3 cinasa, que genera lípidos inositol nuevos que pueden actuar como moléculas "segundo mensajero"; éstas, a su vez, activan a PDK1 y luego varias de las moléculas emisoras de señales torrente abajo, entre ellas la proteína cinasa B (PKB o akt), SGK y aPKC. Una vía alternativa comprende la activación de p70S6K y quizá otras cinasas todavía no identificadas. En segundo lugar, la fosforilación de IRS (probablemente IRS-1) ocasiona acoplamiento de GRB2/mSOS y activación de la GTPasa pequeña, p21RAS, que inicia una cascada de proteína cinasa que activa a Raf-1, MEK, y las isoformas de p42/p44 de la MAP cinasa. Estas proteínas cinasas son importantes en la regulación de la proliferación y diferenciación de varios tipos de célula. La vía mTOR proporciona una vía alternativa de activación de p70S6K, y parece estar involucrada en la emisión de señales de nutriente, así como en la acción de la insulina. Cada una de estas cascadas puede influir sobre diferentes procesos fisiológicos, como se muestra. Todos los eventos de fosforilación son reversibles mediante la acción de fosfatasas específicas. Por ejemplo, la fosfatasa lípida PTEN desfosforila el producto de la reacción de PI-3 cinasa, lo que antagoniza la vía y termina la señal. En cada uno de los cuadros se muestran efectos representativos de las principales acciones de la insulina. El asterisco después de la fosfodiesterasa indica que la insulina afecta de modo indirecto la actividad de muchas enzimas al activar fosfodiesterasas y producir decremento de las cifras intracelulares de cAMP. (IGFBP, proteína de unión a factor de crecimiento parecido a la insulina; IRS 1 a 4, isoformas del sustrato receptor de insulina 1 a 4; PI-3 cinasa, fosfatidilinositol 3-cinasa; PTEN, homólogo de fosfatasa y tensina eliminado en el cromosoma 10; PKD1, cinasa dependiente de fosfoinositida; PKB, proteína cinasa B; SGK, cinasa regulada por suero y glucocorticoide; aPKC, proteína cinasa C atípica; p70S6K, proteína ribosómica p70 S6 cinasa; mTOR, blanco de mamífero de la rapamicina; GRB2, proteína de unión a receptor de factor de crecimiento 2; mSOS, son of sevenless de mamífero; MEK, MAP cinasa cinasa y ERK cinasa; MAP cinasa, proteína cinasa activada por mitógeno.)

rilación de tirosina a varias proteínas, cuyo resultado es la activación de una cascada de treonina y serina cinasas. La figura 42-8 ilustra una vía que muestra cómo esta interacción entre insulina y receptor activa la vía de la proteína activada por mitógeno (MAP) cinasa y los efectos anabólicos de la insulina. Quedan por establecerse las funciones precisas de muchas de estas proteínas de acoplamiento, cinasas y fosfatasas.

Hormonas y citocinas usan la vía de la Jak/STAT

La activación de tirosina cinasa también puede iniciar una cascada de fosforilación y desfosforilación que incluye la acción de varias otras proteínas cinasas y las acciones contraequilibrantes de las fosfatasas. Se emplean dos mecanismos para iniciar esta cascada. Algunas hormonas, como la hormona de crecimiento, prolactina, eritropoyetina y las citocinas, inician su acción al activar una tirosina cinasa, pero su actividad no es una parte integral del receptor de hormona. La interacción entre hormona y receptor promueve la unión y activación de **proteínas tirosina cinasas citoplásmicas,** como **Tyk-2, Jak1,** o **Jak2.**

Estas cinasas fosforilan una o más proteínas citoplásmicas, que luego se asocian con otras proteínas de acoplamiento mediante unión a dominios SH2. Una interacción de ese tipo se traduce en la activación de una familia de proteínas citosólicas denominadas **transductores de señal y activadores de transcripción (STAT).** La proteína STAT fosforilada se dimeriza y transloca hacia el núcleo, se une a un elemento de DNA específico, como el elemento de respuesta a interferón, y activa la transcripción (fig. 42-9). Otros eventos de acoplamiento de SH2 pueden dar por resultado la activación de PI-3 cinasa, la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), o activación (mediada por proteína G) de fosfolipasa C (PLCγ) con la producción acompañante de diacilglicerol y activación de la proteína cinasa C. Está claro que hay potencial de "interferencia" cuando diferentes hormonas activan estas diversas vías de transducción de señal.

La vía de NF-κB está regulada por glucocorticoides

El factor de transcripción **NF-κB es un complejo heterodimérico** típicamente compuesto de dos **subunidades llamadas p50 y p65** (fig. 42-10). En circunstancias normales, NF-κB se mantiene secuestrado en el citoplasma en una forma inactiva en el aspecto transcripcional por miembros de la **familia del inhibidor de NF-κB (IκB).** Estímulos extracelulares, como citocinas proinflamatorias, especies de oxígeno reactivas, y mitógenos, conducen a la activación del complejo de IκB cinasa, IKK, que es una estructura heterohexamérica que consta de subunidades α, β y γ. IKK fosforila a IκB sobre dos residuos serina, y esto establece a IκB como blanco para ubiquitinación y degradación subsiguiente por el proteasoma. Después de la degradación de IκB, el NF-κB libre se transloca hacia el núcleo, donde se une a diversos promotores de gen y activa la transcripción, en particular de genes involucrados en la **respuesta inflamatoria.** La regulación transcripcional por NF-κB está mediada por diversos coactivadores, como proteína de unión a CREB (CBP), como se describe más adelante (fig. 42-13).

Las **hormonas glucocorticoides** son agentes útiles desde el punto de vista terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias. Sus acciones antiinflamatorias e inmunorreguladoras se explican en parte por la inhibición de NF-κB y sus acciones subsiguientes. Se ha presentado evidencia

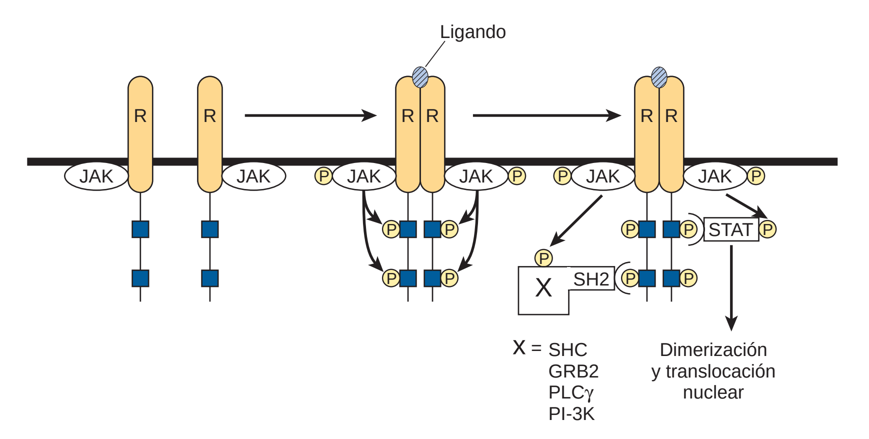


FIGURA 42-9 Inicio de transducción de señal por receptores enlazados a cinasas Jak. Los receptores (R) que se unen a la prolactina, hormona de crecimiento, interferones y citocinas carecen de tirosina cinasa endógena. En el momento de unión a ligando, estos receptores se dimerizan y una proteína asociada (Jak1, Jak2 o TYK) se fosforila. Jak-P, una cinasa activa, fosforila el receptor sobre residuos tirosina. Las proteínas STAT se asocian con el receptor fosforilado y luego son fosforiladas ellas mismas por Jak-P. STAT P se dimeriza, se transloca hacia el núcleo, se une a elementos de DNA específicos, y regula la transcripción. Los residuos fosfotirosina del receptor también se unen a varias proteínas que contienen dominio SH2 (X-SH2). Esto se traduce en activación de la vía de la MAP cinasa (por medio de SHC o GRB2), PLCγ o PI-3 cinasa.

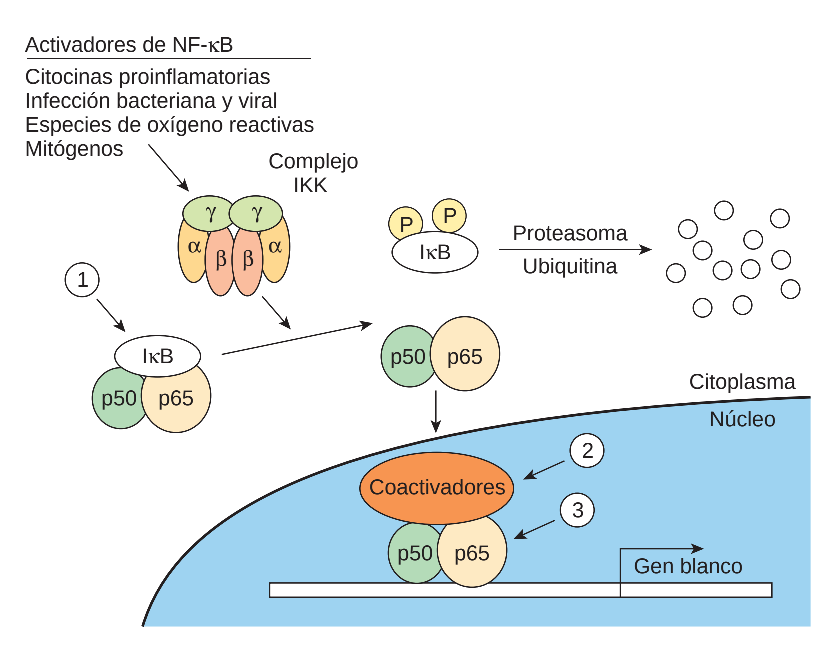


FIGURA 42-10 Regulación de la vía del NF-κB. El NF-κB consta de dos subunidades, p50 y p65, que cuando están presentes en el núcleo regulan la transcripción de la multitud de genes importantes para la respuesta inflamatoria. El IκB, un inhibidor de NF-κB, restringe la entrada de este último al núcleo. El IκB se une a —y enmascara— la señal de localización nuclear de NF-κB. Esta proteína citoplásmica es fosforilada mediante un complejo IKK que se activa por citocinas, especies de oxígeno reactivas y mitógenos. El IκB fosforilado se puede ubiquitinilar y degradar, lo que libera su sujeción sobre NF-κB. Se cree que los glucocorticoides, potentes antiinflamatorios, afectan al menos tres pasos en este proceso (1, 2, 3) (véase el texto).

de tres mecanismos para la inhibición de NF-κB por glucocorticoides: 1) los glucocorticoides incrementan el mRNA que codifica para IκB, lo que da pie a un aumento de la proteína IKB y secuestro más eficiente de NF-κB en el citoplasma. 2) El receptor de glucocorticoide compite con NF-κB para la unión a coactivadores. 3) El receptor de glucocorticoide se une de modo directo a la subunidad p65 de NF-κB, e inhibe su activación (fig. 42-10).

LAS HORMONAS PUEDEN INFLUIR SOBRE EFECTOS BIOLÓGICOS ESPECÍFICOS AL MODULAR LA TRANSCRIPCIÓN

Las señales generadas como se describió tienen que traducirse hacia una acción que permite a la célula adaptarse con eficacia a un desafío (fig. 42-1). Gran parte de esta adaptación se logra mediante alteraciones de los índices de transcripción de genes específicos. Muchas observaciones diferentes han llevado a la opinión actual de cómo las hormonas afectan la transcripción. Algunas de éstas son como sigue: 1) los genes transcritos de manera activa están en regiones de cromatina “abierta” (definida por una susceptibilidad a la enzima DNasa I), lo que permite el acceso de factores de transcripción a DNA. 2) Los genes tienen regiones reguladoras, y los factores de transcripción se unen a éstos para modular la frecuencia del inicio de transcripción. 3) El complejo de hormona y receptor puede ser uno de estos factores de transcripción. La secuencia de DNA a la cual se une esto se denomina un elemento de respuesta a hormona HRE; véanse ejemplos en el cuadro 42-1. 4) De modo alternativo, otras señales generadas por hormona pueden modificar la localización, cantidad o actividad de factores de transcripción y, de esta manera, influir sobre la unión al elemento regulador o de respuesta. 5) Los miembros de una superfamilia grande de receptores nucleares actúan con receptores de hormona, o de un modo análogo a los mismos. 6) Estos receptores nucleares interactúan con otro grupo grande de moléculas correguladoras para efectuar cambios en la transcripción de genes específicos.

Se han definido varios elementos de respuesta a hormona (HRE)

Los HRE semejan elementos potenciadores por cuanto no dependen de manera estricta de la posición y ubicación u orientación. Regularmente se encuentran dentro de algunos cientos de nucleótidos corriente arriba (5′) del sitio de inicio de la transcripción, pero pueden estar ubicados dentro de la región codificadora del gen, en intrones. Los HRE se definieron por medio de la estrategia que se ilustra en la figura 38-11. Se llegó a las secuencias de consenso ilustradas en el cuadro 42-1 mediante el análisis de muchos genes regulados por una hormona dada usando sistemas reportero heterólogos simples (fig. 38-10). Si bien estos HRE simples se unen al complejo de hormona-receptor con mayor avidez que el DNA circundante —o el DNA de una fuente no relacionada— y confieren capacidad de respuesta hormonal a un gen reportero, pronto quedó de manifiesto que los circuitos reguladores de genes naturales deben ser bastante más complicados. Los glucocorticoides, las progestinas, los mineralocorticoides y los andrógenos tienen acciones fisiológicas muy diferentes. ¿De qué modo la especificidad requerida para estos efectos se logra por medio de regulación de la expresión de gen mediante el mismo HRE (cuadro 42-1)? Preguntas como ésta han llevado a experimentos que han permitido la elaboración de un modelo de regulación de la transcripción muy complejo. Por ejemplo, el HRE debe asociarse con otros elementos del DNA (y proteínas de unión asociadas) para que funcione de manera óptima. La extensa similitud de secuencia notada entre los receptores de hormona esteroide, especialmente en sus dominios de unión a DNA, llevó al descubrimiento de la **superfamilia de receptor nuclear** de proteínas. Éstas —y un gran número de **proteínas correguladoras**— permiten una amplia variedad de interacciones entre DNA y proteína, y entre una proteína y otra, y la especificidad ne-

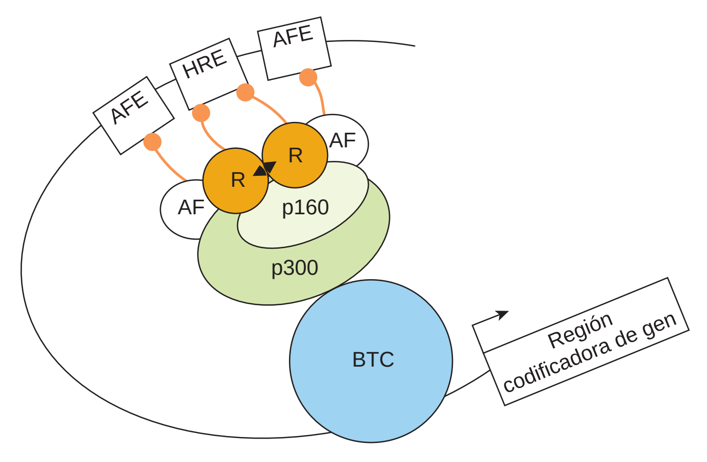


FIGURA 42-11 La unidad de transcripción de respuesta a hormona. Esta unidad es un montaje de elementos de DNA y proteínas unidas que interactúan, por medio de interacciones entre una proteína y otra, con diversas moléculas coactivadoras o correpresoras. Un componente esencial es el elemento de respuesta a hormona que se une al receptor unido a ligando ( ) (R). Asimismo, son importantes los elementos de factor accesorio (AFE) con los factores de transcripción unidos. Más de dos docenas de estos factores accesorios (AF), que suelen ser miembros de la superfamilia de receptor nuclear, se han enlazado con efectos hormonales sobre la transcripción. Los AF pueden interactuar entre sí, con los receptores nucleares que tienen ligando, o con correguladores. Estos componentes se comunican con el complejo de transcripción basal (BTC) mediante un complejo corregulador que puede constar de uno o más miembros de las familias p160, correpresor, vinculado con mediador o CBP/p300 (cuadro 42-6). Recuerde que muchos de los correguladores de la transcripción portan actividades enzimáticas intrínsecas, que modifican de manera covalente el DNA, proteínas de transcripción, y las histonas presentes en los nucleosomas (que no se muestran aquí) en el potenciador (HRE, AFE) y el promotor, y alrededor de los mismos (caps. 36, 38). En conjunto, la hormona, el receptor de hormona, la cromatina, el DNA y la maquinaria de transcripción integran y procesan señales hormonales para regular la transcripción de un modo fisiológico.

cesaria para control fisiológico muy regulado. La figura 42-11 ilustra un esquema de ese tipo de montaje.

Hay una familia grande de proteínas receptoras nucleares

La superfamilia de receptor nuclear consta de un grupo diverso de factores de transcripción que se descubrió debido a una similitud de secuencia en sus dominios de unión a DNA. Esta familia, ahora con más de 50 miembros, comprende los receptores de hormona nuclear ya comentados, varios otros receptores cuyos ligandos se descubrieron tras la identificación de los receptores, y muchos receptores putativos o huérfanos para los cuales queda por descubrir un ligando.

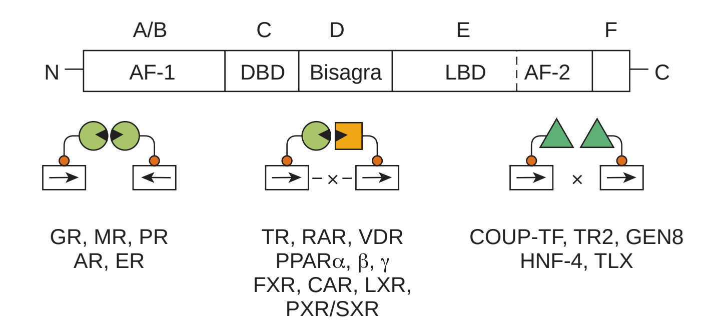
Estos receptores nucleares tienen varias características estructurales en común (fig. 42-12). Todos tienen un **dominio de unión a DNA (DBD)** ubicado centralmente que permite al receptor unirse con alta afinidad a un elemento de respuesta. El DBD contiene dos motivos de unión dedo de zinc (fig. 38-14) que dirigen la unión sea como homodímeros, como heterodímeros (por lo general con una pareja receptor X retinoide [RXR]) o como monómeros. El elemento de respuesta blanco consta de una o dos secuencias de consenso de medio sitio de DNA dispuestas como una repetición invertida o directa. El espacio entre esta última ayuda a determinar la especificidad de unión. Así, en general, una repetición directa con 3, 4 o 5 regiones espaciadoras de nucleótido especifica la unión de receptores de vitamina D, hormona tiroidea, y ácido retinoico, respectivamente, al mismo elemento de respuesta de consenso (cuadro 42-1). Un **dominio de unión a ligando (LBD)** multifuncional está localizado en la mitad carboxilo terminal del receptor. El LBD se une a hormonas o metabolitos con selectividad y, de este modo, especifica una respuesta biológica particular. Asimismo, el LBD contiene dominios que median la unión de proteínas de choque por calor, dimerización, localización nuclear y transactivación. Esta última función es facilitada por la función de activación de transcripción carboxilo terminal **(dominio AF-2)**, que forma una superficie requerida para la interacción con coactivadores. Una **región bisagra** muy variable separa el DBD del LBD. Esta región proporciona flexibilidad al receptor, de manera que puede adoptar diferentes conformaciones de unión a DNA. Por último, hay una región amino terminal muy variable que contiene otro dominio de transactivación llamado **AF-1.** El dominio AF-1 probablemente proporciona funciones fisiológicas separadas por medio de la unión de diferentes proteínas correguladoras. Esta región del receptor, mediante el uso de promotores diferentes, sitios de empalme alternativos, y múltiples sitios de inicio de traducción, proporciona isoformas de receptor que comparten identidad de DBD y LBD pero ejercen diferentes respuestas fisiológicas debido a la asociación de diversos correguladores con este dominio AF-1 amino terminal variable.

Es posible clasificar de diversos modos este gran número de receptores hacia grupos. Aquí se comentan de acuerdo con la manera en que se unen a sus elementos de DNA respectivos (fig. 42-12). Los receptores de hormona clásicos para glucocorticoides (GR), mineralocorticoides (MR), estrógenos (ER), andrógenos (AR) y progestinas (PR), se unen como homodímeros a secuencias repetidas invertidas. Otros receptores de hormona, como de receptor tiroideo (TR), ácido retinoico (RAR) y vitamina D (VDR), y receptores que se unen a diversos ligandos de metabolito como PPAR α, β y γ, FXR, LXR, PXR/SXR, y CAR, se unen como heterodímeros, con receptor X retinoide (RXR) como una pareja, para dirigir secuencias repetidas (fig. 42-12 y cuadro 42-5). Otro grupo de receptores huérfanos que hasta ahora no tienen ligando conocido se unen como homodímeros o monómeros a secuencias repetidas directas.

El descubrimiento de la superfamilia de receptor nuclear ha llevado a una comprensión importante de cómo diversos metabolitos y xenobióticos regulan la expresión de gen y, de este modo, el metabolismo, la destoxificación y la eliminación de productos corporales normales, y agentes exógenos, como productos farmacéuticos (cuadro 42-5). No sorprende que esta área sea un fértil campo para la investigación de nuevas intervenciones terapéuticas.

Gran número de correguladores de receptor nuclear también participa en la regulación de la transcripción

El remodelado de cromatina (modificaciones de histona, metilación de DNA), la modificación de factor de transcripción por diversas actividades enzimáticas, y la comunicación entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal, se logran por medio de



Receptores:	Clase esteroide	RXR formando pareja	Huérfanos
Unión:	Homodímeros	Heterodímeros	Homodímeros
Ligando:	Esteroides	9-Cis RA + (x)	?
Elemento de DNA:	Repetición invertida	Repeticiones directas	Repeticiones directas

FIGURA 42-12 La superfamilia de receptor nuclear. Los miembros de esta familia se dividen en seis dominios estructurales (A a F). El dominio A/B también se denomina AF-1, o la región moduladora, porque está involucrado en la activación de la transcripción. El dominio C consta del dominio de unión a DNA (DBD). La región D contiene la bisagra, que proporciona flexibilidad entre el DBD y el dominio de unión a ligando (LBD, región E). La parte C terminal de la región E contiene AF-2, otro dominio importante para la transactivación. La región F está poco definida. Las funciones de estos dominios se comentan con mayor detalle en el texto. Los receptores que tienen ligandos conocidos, como las hormonas esteroides, se unen como homodímeros sobre medios sitios de repetición invertidos. Otros receptores forman heterodímeros con la pareja RXR sobre elementos repetidos directos. Puede haber espaciadores nucleótido de una a cinco bases entre estas repeticiones directas (DR1 a 5). Otra clase de receptores para la cual no se han determinado ligandos (receptores huérfanos) se unen como homodímeros a repeticiones directas, y en ocasiones como monómeros a un medio sitio único.

interacciones entre una proteína y otra con una o más de una clase de moléculas correguladoras. El número de estas moléculas correguladoras ahora excede 100, sin contar variaciones de especie y variantes de empalme. La primera de éstas en describirse fue la **proteína de unión a CREB (CBP).** La CBP, mediante un dominio amino terminal, se une a la serina 137 fosforilada de CREB, y media la transactivación en respuesta a cAMP. Así, se describe como un coactivador. La CBP y su familiar cercano, p300, interactúan de manera directa o indirecta con diversas moléculas emisoras de señal, incluso proteína activadora-1 (AP-1), transductores de señal y activadores de transcripción (STAT), receptores nucleares y CREB (fig. 42-13). La **CBP/p300** también se une a la familia de coactivadores

CUADRO 42-5 Receptores nucleares con ligandos especiales[1]

Receptor		Pareja	Ligando	Proceso afectado
Peroxisoma	$PPAR_\alpha$	RXR (DR1)	Ácidos grasos	Proliferación de peroxisoma
Activado por proliferador	$PPAR_\beta$ $PPAR_\gamma$		Ácidos grasos Ácidos grasos Eicosanoides, tiazolidinedionas	Metabolismo de lípidos y carbohidratos
Farnesoide X	FXR	RXR (DR4)	Farnesol, ácidos biliares	Metabolismo de ácido biliar
Hígado X	LXR	RXR (DR4)	Oxiesteroles	Metabolismo de colesterol
Xenobiótico X	CAR	RXR (DR5)	Androstanos Fenobarbital Xenobióticos	Protección contra ciertos fármacos, metabolitos tóxicos y xenobióticos
	PXR	RXR (DR3)	Pregnanos Xenobióticos	

[1] Muchos miembros de la superfamilia de receptor nuclear se descubrieron mediante clonación, y después se identificaron los ligandos correspondientes. Estos ligandos no son hormonas en el sentido clásico, pero tienen una función similar por cuanto activan a miembros específicos de la superfamilia de receptor nuclear. Los receptores aquí descritos forman heterodímeros con RXR y tienen secuencias de nucleótido variables que separan los elementos de unión de repetición directa (DR1 a 5). Estos receptores regulan diversos genes que codifican para citocromos p450 (CYP), proteínas de unión citosólicas, y transportadores de casete de unión a ATP (ABC) para influir sobre el metabolismo y proteger a las células contra medicamentos y agentes nocivos.

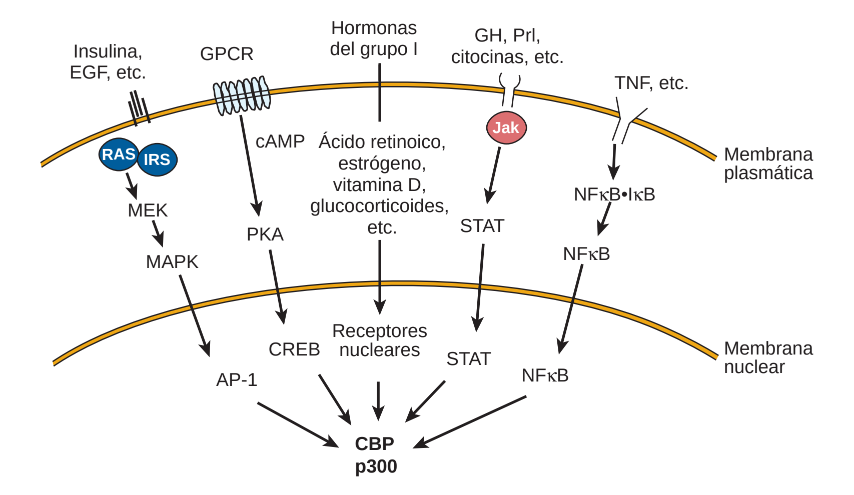


FIGURA 42-13 Varias vías de transducción de señal convergen en CBP/p300. Muchos ligandos que se asocian con receptores de membrana o nucleares finalmente convergen en CBP/p300. Se emplean varias vías de transducción de señal diferentes. (EGF, factor de crecimiento epidérmico; GH, hormona de crecimiento; Prl, prolactina; TNF, factor de necrosis tumoral; otras abreviaturas se desatan en el texto.)

p160 descrita más adelante, y a varias otras proteínas, incluso el factor de transcripción viral Ela, la proteína cinasa $p90^{rsk}$ y la RNA helicasa A. Tiene importancia notar, como se mencionó, que **CBP/p300 tiene actividad intrínseca de histona acetiltransferasa (HAT)**. En la figura 42-11 se ilustran algunas de las muchas acciones de CBP/p300, que parecen depender de actividades enzimáticas intrínsecas y su capacidad para servir como un andamio para la unión de otras proteínas. Otros correguladores desempeñan funciones similares.

Se han descrito varias otras familias de moléculas coactivadoras. Los miembros de la **familia de coactivadores p160**, todos de aproximadamente 160 kDa, incluyen: 1) SRC-1 y NCoA-1; 2) GRIP1, TIF2, y NCoA-2, y 3) p/CIP, ACTR, AIB1, RAC3 y TRAM-1 (cuadro 42–6). Los diferentes nombres para miembros dentro de una subfamilia suelen representar variaciones de especie o variantes de empalme menores. Hay alrededor de 35% de identidad de aminoácidos entre miembros de las diferentes subfamilias. Los coactivadores p160 comparten varias proteínas: 1) se unen a receptores nucleares de un modo dependiente de agonista y de dominio de transactivación AF2; 2) tienen un motivo de hélice-asa-hélice básica (bHLH) amino terminal conservado (cap. 38); 3) tienen un dominio de transactivación carboxilo terminal débil y un dominio de transactivación amino terminal más fuerte en una región que se requiere para la interacción de CBP/p160; 4) contienen al menos tres de los **motivos LXXLL** requeridos para la interacción proteína-proteína con otros coactivadores, y 5) a menudo tienen actividad de HAT. La función de HAT es en particular interesante, dado que las mutaciones del dominio HAT inutilizan muchos de estos factores de transcripción. La opinión actual es que estas actividades de HAT acetilan histonas y originan remodelado de la cromatina hacia un ambiente eficiente para la transcripción; empero, se han informado otros sustratos proteínicos para acetilación mediada por HAT. De esta manera, la acetilación/desacetilación de histona tiene una función crucial en la expresión de gen.

Un pequeño número de proteínas, incluso NCoR y SMRT, comprenden la **familia corrpresora**. Su función, al menos en parte, se describe en la figura 42-2. Otra familia incluye las TRAP, DRIP y ACR (cuadro 42-6). Estas proteínas representan subunidades del Mediador (cap. 36) y varían de tamaño desde 80 kDa hasta 240 kDa, y se cree que enlazan el complejo de receptor-coactivador nuclear a

CUADRO 42-6 Algunas proteínas correguladoras de mamífero

I. Familia de coactivadores de p300 kDa	
A. CBP	Proteína de unión a CREB
B. p300	Proteína de 300 kDa
II. Familia de coactivadores de 160 kDa	
A. SRC-1 NCoA-1	Coactivador de receptor de esteroide 1 Coactivador de receptor nuclear 1
B. TIF2 GRIP1 NCoA-2	Factor intermediario transcripcional 2 Proteína de interacción con receptor de glucocorticoide Coactivador de receptor nuclear 2
C. p/CIP ACTR AIB RAC3 TRAM-1	Proteína vinculada con cointegrador p300/CBP 1 Activador de los receptores de hormona tiroidea y ácido retinoico Amplificado en cáncer mamario Coactivador asociado con receptor 3 Molécula activadora de TR 1
III. Correpresores	
A. NCoR	Correpresor de receptor nuclear
B. SMRT	Mediador silenciador para RXR y TR
IV. Proteínas relacionadas con mediador	
A. TRAPs	Proteínas asociadas con receptor de hormona tiroidea
B. DRIPs	Proteínas que interactúan con el receptor de vitamina D
C. ARC	Cofactor reclutado por activador

RNA polimerasa II y los otros componentes del aparato de transcripción basal.

La función exacta de estos coactivadores se encuentra en investigación intensiva. Muchas de estas proteínas tienen actividades enzimáticas intrínsecas. Esto es en especial interesante en vista del hecho de que se ha propuesto que la acetilación, fosforilación, metilación, sumoilación y ubiquitinación —así como proteólisis y translocación celular— alteran la actividad de algunos de estos correguladores y sus blancos.

Parece ser que ciertas combinaciones de correguladores —y, de este modo, diferentes combinaciones de activadores e inhibidores— se encargan de acciones inducidas por ligando específicas por medio de diversos receptores. Además, estas interacciones sobre un promotor dado son dinámicas. En algunos casos se han observado complejos que constan de hasta 47 factores de transcripción en un gen único.

RESUMEN

- Las hormonas, citocinas, interleucinas y factores de crecimiento usan diversos mecanismos de emisión de señales para facilitar respuestas adaptativas celulares.
- El complejo de ligando-receptor sirve como la señal inicial para miembros de la familia de receptor nuclear.
- Las hormonas clase II, que se unen a receptores de super cie celular, generan diversas señales intracelulares, las cuales comprenden cAMP, cGMP, Ca^{2+}, fosfatidilinositidas y cascadas de proteína cinasa.
- Muchas respuestas a hormonas se logran mediante alteraciones del índice de transcripción de genes especí cos.
- La superfamilia de proteínas de receptor nuclear desempeña una función fundamental en la regulación de la transcripción de gen.
- Los receptores nucleares, que pueden tener hormonas, metabolitos o fármacos como ligandos, se unen a elementos de DNA especí cos como homodímeros o como heterodímeros con RXR. Algunos —receptores huérfanos— no tienen un ligando conocido pero se unen al DNA e in uyen sobre la transcripción.
- Otra familia grande de proteínas correguladoras remodela la cromatina, modi ca otros factores de transcripción, y forma puentes entre los receptores nucleares y el aparato de transcripción basal.

REFERENCIAS

Arvanitakis L et al: Constitutively signaling G-protein-coupled receptors and human disease. Trends Endocrinol Metab 1998;9:27.

Aylon Y, Oren M: Living with p53, Dying of p53. Cell 2007;130:597.

Beene DL, Scott JD: A-kinase anchoring proteins take shape. Current Opinion in Cell Biol 2007;19:192.

Darnell JE Jr, Kerr IM, Stark GR: Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science 1994;264:1415.

Fantl WJ, Johnson DE, Williams LT: Signalling by receptor tyrosine kinases. Annu Rev Biochem 1993;62:453.

Hanoune J, Defer N: Regulation and role of adenylyl cyclase isoforms. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2001;41:145.

Jaken S: Protein kinase C isozymes and substrates. Curr Opin Cell Biol 1996;8:168.

Lee C-H, Olson P, Evans RM: Mini-review: Lipid metabolism, metabolic diseases and peroxisome proliferators-activated receptor. Endocrinology 2003;144:2201.

Métivier R et al: Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promter. Nature 2008;452:45.

Métivier R, Reid G, Gannon F: Transcription in four dimensions: nuclear receptor-directed initiation of gene expression. EMBO Journal 2006;7:161.

Montminy M: Transcriptional regulation by cyclic AMP. Annu Rev Biochem 1997;66:807.

Morris AJ, Malbon CC: Physiological regulation of G protein-linked signaling. Physiol Rev 1999;79:1373.

O´Malley B: Coregulators: from whence came these “master genes.” Mol Endocrinology 2007;21:1009.

Rosenfeld MG, Lunyak VV, Glass CK: Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response. Genes and Dev 2006;20:1405.

Sonoda J, Pei L, Evans RM: Nuclear receptors: decoding metabolic disease. Fed of European Biochem Soc 2007;582:2.

Tang X, Tang G, Ozcan S: Role of microRNAs in diabetes. Biochim Biophys Acta 2008;1779:697.

Walton KM, Dixon JE: Protein tyrosine phosphatases. Annu Rev Biochem 1993;62:101.

SECCIÓN VI TEMAS ESPECIALES

CAPÍTULO 43

Nutrición, digestión y absorción

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (principalmente carbohidratos y lípidos), proteína (para el crecimiento, y para el recambio de proteínas hísticas), fibra (para formación de volumen en la luz del intestino), minerales (que contienen elementos con funciones metabólicas específicas), y vitaminas y ácidos grasos esenciales (compuestos orgánicos necesarios en cantidades menores para otras funciones metabólicas y fisiológicas). Antes de su absorción y utilización, los polisacáridos, triacilgliceroles y proteínas que constituyen la mayor parte de la dieta, se deben hidrolizar hacia los monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos que los constituyen, respectivamente. Los minerales y las vitaminas se deben liberar de la matriz de alimento compleja antes de que se puedan absorber y utilizar.

La **nutrición insuficiente** está difundida en todo el mundo, lo que lleva a alteración de crecimiento, sistema inmunitario defectuoso, y capacidad reducida para trabajar. En contraste, en países desarrollados hay consumo excesivo de alimento (en especial de grasa), lo que conduce a obesidad, enfermedad cardiovascular y algunas formas de cáncer. Las deficiencias de vitamina A, hierro y yodo plantean importantes preocupaciones respecto a la salud en muchos países, y las deficiencias de otras vitaminas y minerales son una causa importante de mala salud. En países desarrollados, la deficiencia de nutrientes es rara, aunque hay sectores vulnerables de la población en riesgo. La ingestión de minerales y vitaminas que es adecuada para prevenir deficiencia puede ser inadecuada para promover la salud óptima y la longevidad.

La secreción excesiva de ácido gástrico, relacionada con infección por *Helicobacter pylori*, llega a producir **úlceras** gástricas y duodenales; pequeños cambios de la composición de la bilis pueden originar cristalización de colesterol como **cálculos biliares;** la insuficiencia de la secreción pancreática exocrina (como en la **fibrosis quística**) lleva a nutrición insuficiente y esteatorrea. La **intolerancia a la lactosa** es el resultado de deficiencia de lactasa, lo que ocasiona diarrea y molestias intestinales. La absorción de péptidos intactos que estimulan respuestas de anticuerpos causa **reacciones alérgicas,** y la **enfermedad celiaca** es una reacción alérgica al gluten del trigo.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos se digieren mediante hidrólisis para liberar oligosacáridos, y después monosacáridos y disacáridos. El aumento de la glucosa en la sangre después de una dosis de prueba de carbohidrato en comparación con el que se observa después de una cantidad equivalente de glucosa (como glucosa o a partir de un alimento feculento de referencia) se conoce como el **índice glucémico.** La glucosa y la galactosa tienen un índice de 1, al igual que la lactosa, maltosa, isomaltosa y trealosa, que dan lugar a estos monosacáridos en el momento de la hidrólisis. La fructosa y los alcoholes azúcar se absorben con menos rapidez y tienen un índice glucémico más bajo, al igual que la sacarosa. El índice glucémico del almidón varía desde cerca de 1 hasta alrededor de 0, como resultado de índices variables de hidrólisis, y el de los polisacáridos no feculentos es de 0. Se considera que los alimentos que tienen un índice glucémico bajo son más beneficiosos porque causan menos fluctuación de la secreción de insulina. Los polisacáridos feculentos y no feculentos resistentes proporcionan sustratos para la fermentación bacteriana en el intestino grueso, y el butirato y otros ácidos grasos de cadena corta resultantes proporcionan una importante fuente de combustible para los enterocitos intestinales. Hay algunas evidencias de que el butirato también tiene actividad antiproliferativa y, así, proporciona protección contra el cáncer colorrectal.

Las amilasas catalizan la hidrólisis del almidón

La hidrólisis del almidón es catalizada por amilasas salivales y pancreáticas, que catalizan la hidrólisis al azar de enlaces glucósido α

(1 → 4), lo que da dextrinas, y después una mezcla de glucosa, maltosa y maltotriosa, y dextrinas ramificadas pequeñas (a partir de puntos de ramificación en la amilopectina).

Los disacáridos son enzimas del borde en cepillo

Los disacáridos, la maltasa, la sacarasa-isomaltasa (una enzima bifuncional que cataliza la hidrólisis de sacarosa e isomaltosa), lactasa y trehalasa están localizadas en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se absorben los monosacáridos resultantes y los que surgen a partir de la dieta. Rara vez ocurre deficiencia congénita de lactasa en lactantes, lo que lleva a intolerancia a la lactosa y falta de crecimiento y desarrollo cuando se les alimenta con leche materna o leche artificial para lactantes normales. Ocurre deficiencia congénita de sacarasa-isomaltasa entre los inuit o esquimales, lo que lleva a intolerancia a la sacarosa, con diarrea persistente y falta de crecimiento y desarrollo cuando la dieta contiene sacarosa.

En casi todos los mamíferos, y en la mayoría de los seres humanos, la actividad de la lactasa empieza a disminuir después del destete, y se pierde casi por completo hacia el final de la adolescencia, lo que lleva a **intolerancia a la lactosa.** La lactosa permanece en la luz del intestino, donde es un sustrato para la fermentación bacteriana hacia lactato, lo que da por resultado molestias en el abdomen y diarrea después del consumo de cantidades relativamente grandes. En dos grupos de población, las personas originarias del norte de Europa, y tribus nómadas del África subsahariana y Arabia, la lactasa persiste después del destete y hasta la vida adulta. Los mamíferos marinos secretan una leche con alto contenido de grasa que no contiene carbohidrato, y sus crías carecen de lactasa.

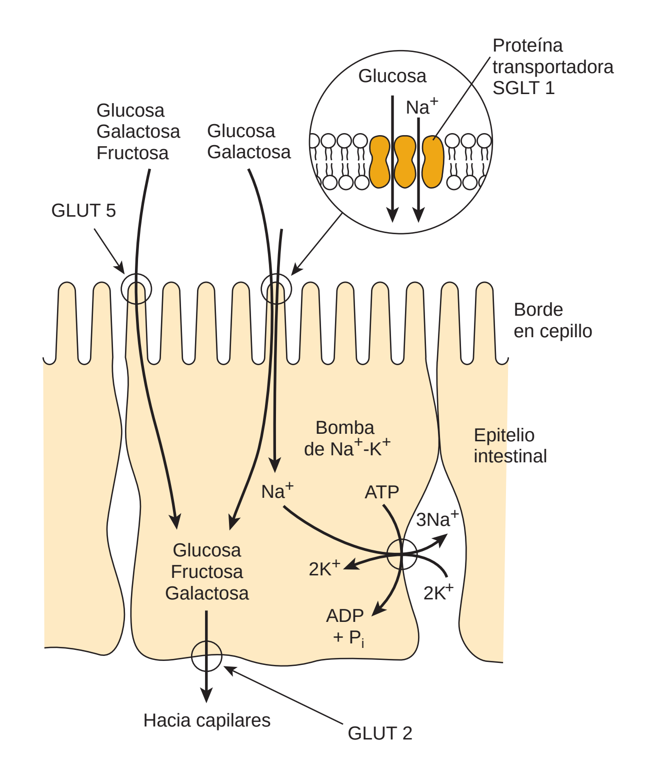


FIGURA 43-1 Transporte de glucosa, fructosa y galactosa a través del epitelio intestinal. El transportador SGLT 1 está acoplado a la bomba de Na^+-K^+, lo que permite que la glucosa y la galactosa se transporten contra sus gradientes de concentración. El transportador facilitador independiente de Na^+ GLUT 5 permite que la fructosa, al igual que la glucosa y la galactosa, se transporten a favor de sus gradientes de concentración. Todos los azúcares salen de la célula por medio del transportador facilitador GLUT 2.

Hay dos mecanismos separados para la absorción de monosacáridos en el intestino delgado

La glucosa y la galactosa se absorben mediante un proceso dependiente de sodio. Se transportan mediante la misma proteína de transporte (SGLT 1), y compiten entre sí por la absorción intestinal (fig. 43-1). Otros monosacáridos se absorben mediante difusión mediada por acarreador. Dado que no se transportan de manera activa, la fructosa y los alcoholes azúcar sólo se absorben a favor de su gradiente de concentración, y después de una ingestión moderadamente alta, cierta cantidad permanece en la luz del intestino, y actúa como un sustrato para la fermentación bacteriana.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LÍPIDOS

Los principales lípidos en la dieta son triacilgliceroles y, en menor grado, fosfolípidos. Se trata de moléculas hidrofóbicas, las cuales se tienen que hidrolizar y emulsificar hacia gotitas muy pequeñas (micelas) antes de que sea posible absorberlas. Las vitaminas liposolubles, A, D, E y K, y varios otros lípidos (entre ellos colesterol) se absorben disueltos en las micelas de lípido. La absorción de las vitaminas liposolubles está alterada cuando la dieta tiene muy poca grasa.

Las lipasas linguales y gástricas inician la hidrólisis de triacilgliceroles; atacan el enlace éster *sn*-3, y forman 1,2-diacilgliceroles y ácidos grasos libres, lo que ayuda a la emulsificación. La lipasa pancreática se secreta hacia intestino delgado, y para tener actividad requiere otra proteína pancreática, la colipasa. Es específica para los enlaces éster primarios —esto es, posiciones 1 y 3 en triacilgliceroles—, lo que da por resultado 2-monoacilgliceroles y ácidos grasos libres como los principales productos terminales de la digestión luminal de triacilglicerol. Los monoacilgliceroles son sustratos poco idóneos para hidrólisis, de modo que menos de 25% del triacilglicerol ingerido se hidroliza por completo hacia glicerol y ácidos grasos (fig. 43-2). Las sales biliares, que se forman en el hígado y se secretan hacia la bilis, permiten la emulsificación de los productos de la digestión de lípidos hacia micelas junto con fosfolípidos y colesterol provenientes de la bilis. Dado que las micelas son solubles, permiten que los productos de la digestión, incluso las vitaminas liposolubles, se transporten a través del ambiente acuoso de la luz intestinal y haya el contacto estrecho con el borde en cepillo de las células de la mucosa, lo que permite captación cerca del epitelio. Las sales biliares pasan hacia el íleon, donde la mayor parte se absorbe hacia la **circulación enterohepática** (cap. 26). Dentro de la luz del intestino, los 1-monoacilgliceroles se hidrolizan hacia ácidos grasos y glicerol, y los 2-monoacilgliceroles se reacilan hacia triacilgliceroles por medio de la **vía del monoacilglicerol.** El glicerol liberado en la luz intestinal no se reutiliza, sino que pasa hacia la vena porta; el glicerol liberado dentro del epitelio se reutiliza para la síntesis de triacilglicerol por medio de la vía del ácido fosfatídico normal

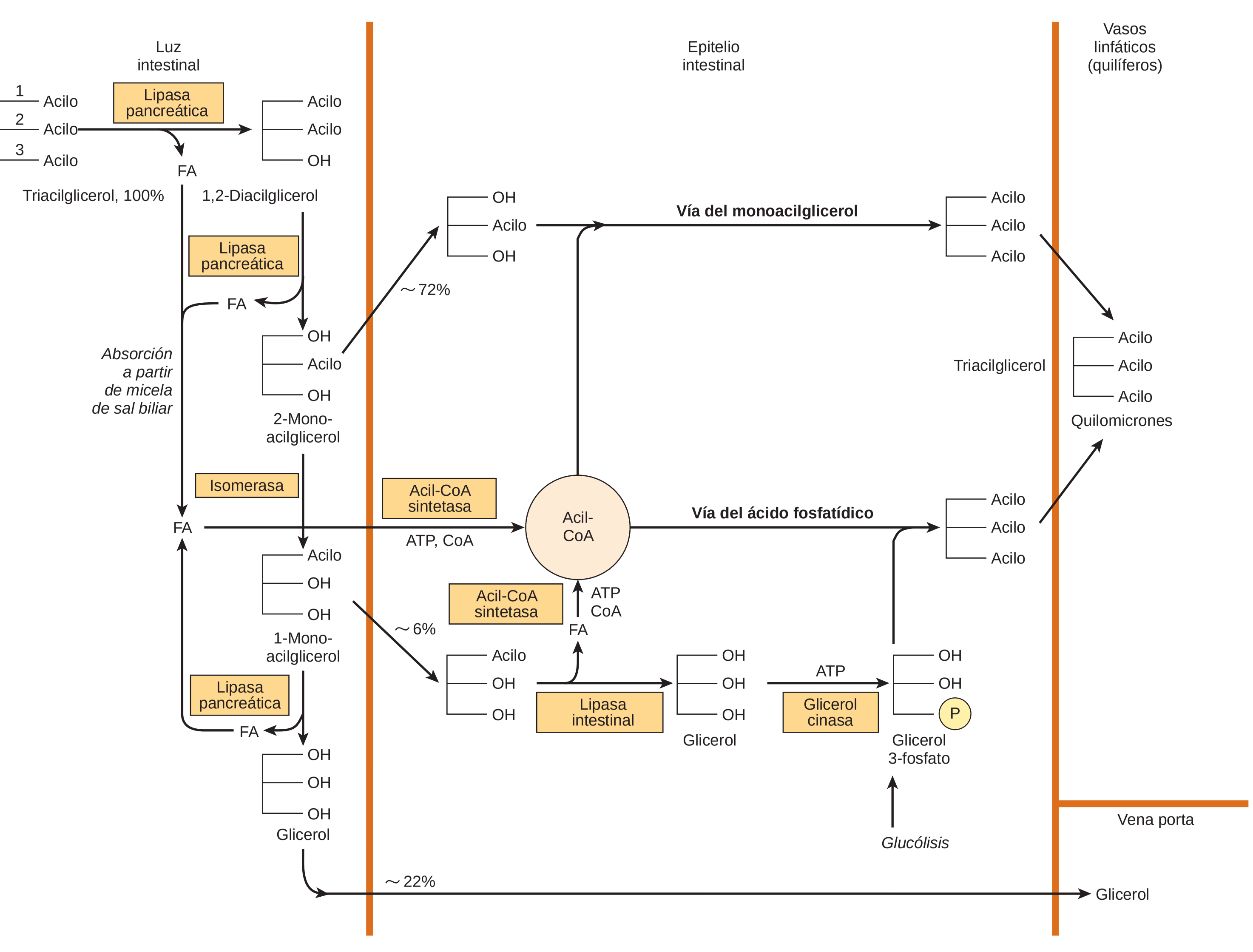


FIGURA 43-2 Digestión y absorción de triacilgliceroles. Los valores dados para el porcentaje de captación pueden variar de manera amplia, pero indican la importancia relativa de las tres rutas mostradas.

(cap. 24). Los ácidos grasos de cadena larga se esterifican para dar triacilglicerol en las células de la mucosa, y junto con los otros productos de la digestión de lípido, se secretan como quilomicrones hacia los linfáticos, y entran en el torrente sanguíneo por medio del conducto torácico (cap. 25). Los ácidos grasos de cadena corta y media se absorben principalmente hacia la vena porta hepática como ácidos grasos libres.

El colesterol es absorbido disuelto en micelas de lípido y se esterifica principalmente en la mucosa intestinal antes de ser incorporado hacia quilomicrones. El colesterol no esterificado y otros esteroles se transportan de manera activa hacia afuera de las células de la mucosa, hacia la luz del intestino. Los esteroles y estanoles de vegetales (en los cuales el anillo B está saturado), compiten con el colesterol por la esterificación, pero son sustratos poco idóneos. Por ende, reducen la absorción de colesterol y actúan para disminuir el colesterol sérico.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS

Pocos enlaces están accesibles a las enzimas proteolíticas que catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos, sin desnaturalización previa de las proteínas de la dieta (mediante el calor en el cocinado la acción del ácido gástrico).

Varios grupos de enzimas catalizan la digestión de proteínas

Hay dos clases principales de enzimas digestivas proteolíticas **(proteasas)**, con diferentes especificidades para los aminoácidos que forman el enlace peptídico que se va a hidrolizar. Las **endopeptidasas** hidrolizan enlaces peptídicos entre aminoácidos específicos en toda la molécula. Son las primeras enzimas en actuar y dan un número mayor de fragmentos de menor tamaño. La pepsina en el jugo gástrico cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos adyacentes a aminoácidos aromáticos y de cadena ramificada, y a metionina. El páncreas secreta tripsina, quimotripsina y elastasa hacia el intestino delgado. La tripsina cataliza la hidrólisis de ésteres lisina y arginina; la quimotripsina, la de ésteres de aminoácidos aromáticos, y la elastasa, la de ésteres de aminoácidos alifáticos neutros pequeños. Las **exopeptidasas** catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos, uno a la vez, desde los extremos de péptidos. Las **carboxipeptidasas,** secretadas en el jugo pancreático, liberan aminoácidos desde el carboxilo terminal libre; las **aminopeptidasas**, secretadas por las células de la mucosa intestinal, liberan aminoácidos desde el amino terminal. Las **dipeptidasas** y **tripeptidasas** en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal catalizan la hidrólisis de dipéptidos y tripéptidos, que no son sustratos para aminopeptidasas ni carboxipeptidasas.

Las proteasas se secretan como **zimógenos** inactivos; el sitio activo de la enzima está enmascarado por una pequeña región de la cadena peptídica que se elimina mediante hidrólisis de un enlace peptídico específico. El pepsinógeno se activa hacia pepsina por el ácido gástrico y por pepsina activada (autocatálisis). En el intestino delgado, el tripsinógeno, el precursor de la tripsina, se activa mediante la enteropeptidasa, que es secretada por las células epiteliales del duodeno; la tripsina a continuación puede activar al quimotripsinógeno hacia quimotripsina, la proelastasa hacia elastasa, la procarboxipeptidasa hacia carboxipeptidasa, y la proaminopeptidasa hacia aminopeptidasa.

Los aminoácidos libres y los péptidos pequeños se absorben mediante mecanismos diferentes

El producto terminal de la acción de las endopeptidasas y las exopeptidasas es una mezcla de aminoácidos libres, dipéptidos y tripéptidos, y oligopéptidos, todos los cuales se absorben. Los aminoácidos libres se absorben a través de la mucosa intestinal por medio de transporte activo dependiente de sodio. Hay varios transportadores de aminoácido diferentes, con especificidad para la naturaleza de la cadena lateral del aminoácido (grande o pequeña, neutra, ácida o básica). Los diversos aminoácidos transportados por cualquier transportador compiten entre sí por la absorción y por la captación hacia los tejidos. Los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde en cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se hidrolizan hacia aminoácidos libres, que a continuación se transportan hacia la vena porta hepática. Los péptidos relativamente grandes pueden absorberse intactos, sea mediante captación hacia células epiteliales de la mucosa (transcelular) o al pasar entre células epiteliales (paracelular). Muchos de esos péptidos son suficientemente grandes como para estimular la formación de anticuerpos; ésta es la base de las **reacciones alérgicas** a alimentos.

DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE VITAMINAS Y MINERALES

Las vitaminas y los minerales se liberan desde los alimentos durante la digestión, aunque esto no es completo, y la disponibilidad de vitaminas y minerales depende del tipo de alimento y, en especial para los minerales, de la presencia de compuestos quelantes. Las vitaminas liposolubles se absorben en las micelas de lípido que son el resultado de la digestión de grasa; las vitaminas hidrosolubles y casi todas las sales minerales se absorben desde el intestino delgado sea mediante transporte activo o mediante difusión mediada por acarreador, seguida por unión a proteínas intracelulares para lograr captación concentrativa. La absorción de la vitamina B_{12} requiere una proteína de transporte específica, el factor intrínseco (cap. 44); la absorción de calcio depende de vitamina D; la absorción de cinc probablemente requiere un ligando de unión a cinc secretado por el páncreas exocrino, y la absorción de hierro es limitada (véase más adelante).

La absorción de calcio depende de la vitamina D

Además de su función en la regulación de la homeostasis del calcio, la vitamina D se requiere para absorción intestinal del mismo. La síntesis de proteína de unión a calcio intracelular, **calbindina,** necesaria para la absorción del calcio, es inducida por la vitamina D, que también afecta la permeabilidad de las células de la mucosa al calcio, un efecto que es rápido e independiente de la síntesis de proteína.

El ácido fítico (hexafosfato de inositol) en los cereales se une al calcio en la luz del intestino, lo que evita su absorción. El fitato también produce quelación de otros minerales, entre ellos el cinc. Esto es principalmente un problema entre personas que consumen grandes cantidades de productos de trigo integral sin levadura (ázimo); la levadura contiene una enzima, la **fitasa,** que desfosforila el fitato,

lo que lo hace inactivo. Las concentraciones altas de ácidos grasos en la luz intestinal, como resultado de absorción alterada de grasa, también pueden reducir la absorción del calcio, al formar sales de calcio insolubles; una ingestión alta de oxalato a veces puede causar deficiencia, porque el oxalato de calcio es insoluble.

La absorción de hierro es limitada y está estrictamente controlada, pero la vitamina C y el alcohol la aumentan

Aunque la deficiencia de hierro es un problema frecuente, alrededor de 10% de la población tiene riesgo de sobrecarga de hierro **(hemocromatosis)** dependiente de mecanismos genéticos, y para disminuir el riesgo de efectos adversos de la generación no enzimática de radicales libres por sales de hierro, la absorción se encuentra estrictamente regulada. El hierro inorgánico se transporta hacia la célula de la mucosa mediante un transportador de ion metálico divalente enlazado a protón, y se acumula dentro de la célula mediante unión a la **ferritina.** El hierro abandona la célula de la mucosa por medio de una proteína de transporte ferroportina, pero sólo si hay **transferrina** libre en el plasma a la cual unirse. Una vez que la transferrina queda saturada con hierro, cualquiera que se haya acumulado en las células de la mucosa se pierde cuando las células se desprenden. La expresión del gen que codifica para ferroportina (y posiblemente también del que codifica para el transportador de ion metálico divalente) es regulada en dirección descendente por la hepcidina, un péptido secretado por el hígado cuando las reservas corporales de hierro son adecuadas. En respuesta a hipoxia, anemia o hemorragia, la síntesis hepcidina se reduce, lo que lleva a incremento de la síntesis de ferroportina, y de la absorción de hierro (fig. 43-3). Como resultado de esta barrera de la mucosa, sólo se absorbe alrededor de 10% del hierro de la dieta, y sólo 1 a 5% del que proviene de muchos alimentos vegetales (cap. 50).

El hierro inorgánico se absorbe en el estado de Fe^{2+} (reducido); por ende, la presencia de agentes reductores aumenta la absorción. El compuesto más eficaz es la **vitamina C,** y si bien las ingestiones de 40 a 80 mg de vitamina C/día son más que adecuadas para satisfacer los requerimientos, una ingestión de 25 a 50 mg por cada comida aumenta la absorción de hierro, en especial cuando se usan sales de hierro para tratar anemia por deficiencia de hierro. El alcohol y la fructosa también aumentan la absorción de hierro. El hierro hem proveniente de la carne se absorbe por separado y está considerablemente más disponible que el hierro inorgánico. Sin embargo, el calcio altera la absorción de hierro tanto inorgánico como hem: un vaso de leche con una comida reduce de manera significativa la disponibilidad de hierro.

BALANCE DE ENERGÍA: NUTRICIÓN EXCESIVA O INSUFICIENTE

Después del suministro de agua, el primer requerimiento del cuerpo es de combustibles metabólicos: grasas, carbohidratos, aminoácidos provenientes de proteínas (cuadro 16-1). La ingestión de alimento mayor que el gasto de energía lleva a **obesidad**, mientras que la ingestión menor que el gasto lleva a emaciación, **marasmo** y **kwashiorkor.** Tanto la obesidad como la desnutrición insuficiente grave se relacionan con aumento de la mortalidad. El índice de masa corporal = peso (en kilogramos)/estatura^2 (en metros) suele usarse como una manera de expresar obesidad relativa; un rango deseable es entre 20 y 25.

Los requerimientos de energía se estiman mediante medición del gasto de energía

El gasto de energía puede determinarse de manera directa, al medir la producción de calor a partir del cuerpo, pero por lo normal se estima de modo indirecto a partir del consumo de oxígeno. Hay un gasto de energía de 20 kJ/litro de oxígeno consumido, al margen de si el combustible que se está metabolizando es carbohidrato, grasa o proteína (cuadro 16-1).

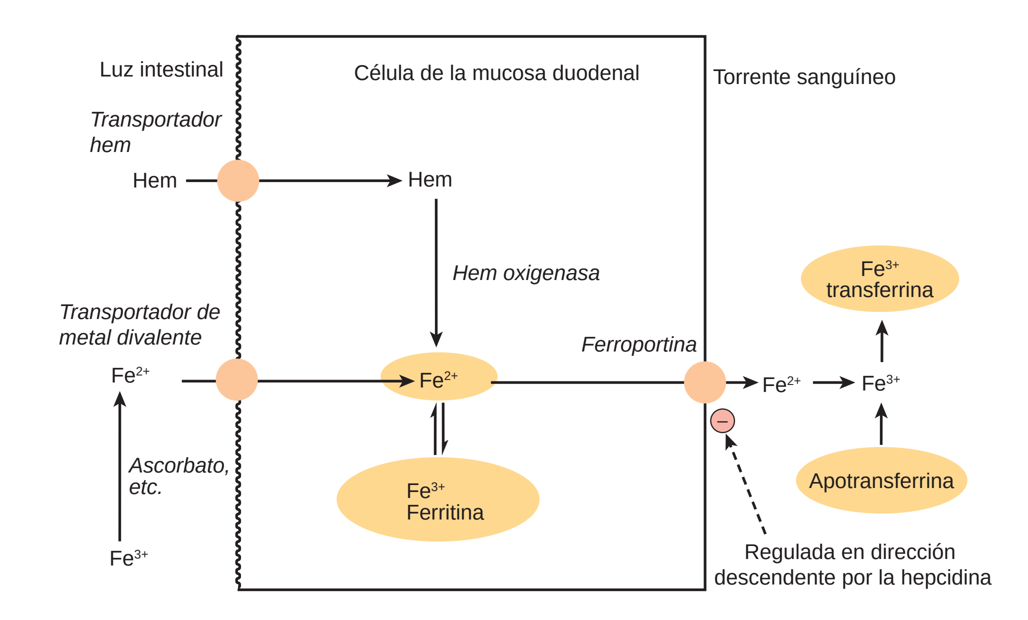


FIGURA 43-3 Absorción de hierro. La hepcidina secretada por el hígado regula en dirección descendente la síntesis de ferroportina y limita la absorción de hierro.

La medición de la proporción del volumen de dióxido de carbono producido: volumen de oxígeno consumido **(cociente respiratorio, RQ)** es una indicación de la mezcla de combustibles metabólicos que se están oxidando (cuadro 16-1).

Una técnica más reciente permite estimar el gasto total de energía durante un periodo de una a dos semanas, usando agua con doble marcado con isótopo, $^{2}H_2{}^{18}O$. El ^{2}H se pierde del cuerpo sólo en agua, mientras que el ^{18}O se pierde tanto en agua como en el dióxido de carbono; la diferencia del índice de pérdida de ambas marcas permite estimar la producción total de dióxido de carbono y, por ende, el consumo de oxígeno y el gasto de energía.

El **índice metabólico basal (BMR)** es el gasto de energía por el cuerpo cuando está en reposo, pero no durmiendo, en condiciones controladas de neutralidad térmica, medido alrededor de 12 h después de la última comida, y depende del peso, la edad y el sexo. El gasto total de energía depende del índice metabólico basal, la energía requerida para actividad física, y el costo de energía de la síntesis de reservas en el estado posprandial. Por ende, es posible calcular el requerimiento de energía de un individuo a partir del peso corporal, la edad, el sexo y la magnitud de la actividad física. El peso corporal afecta al BMR porque hay una mayor cantidad de tejido activo en un cuerpo de mayor tamaño. El decremento del BMR con la edad, incluso cuando el peso corporal permanece constante, es el resultado del remplazo del tejido muscular por tejido adiposo, que es menos activo desde el punto de vista metabólico. De modo similar, las mujeres tienen un BMR bastante más bajo que los varones del mismo peso corporal, porque el cuerpo de las mujeres contiene proporcionalmente más tejido adiposo.

Los requerimientos de energía aumentan con la actividad

La manera más útil de expresar el costo de energía de las actividades físicas es como un múltiplo del BMR. Las actividades sedentarias sólo usan alrededor de 1.1 a 1.2 × BMR. En contraste, el esfuerzo vigoroso, como subir escaleras, caminar a campo traviesa cuesta arriba, etc., puede usar 6 a 8 × BMR.

Un 10% del rendimiento de energía de una comida puede gastarse en la formación de reservas

Después de una comida hay un aumento considerable del índice metabólico **(termogénesis inducida por la dieta)**. Una pequeña parte de esto es el costo de energía de la secreción de enzimas digestivas y del transporte activo de los productos de la digestión; la parte principal es el resultado de sintetizar reservas de glucógeno, triacilglicerol y proteína.

Hay dos formas extremas de nutrición insuficiente

El **marasmo** puede ocurrir tanto en adultos como en niños y se encuentra en grupos vulnerables de todas las poblaciones. El **kwashiorkor** afecta a niños y sólo se ha reportado en países en desarrollo. La característica distintiva del kwashiorkor es que hay retención de líquido, que lleva a edema e infiltración grasa del hígado. El marasmo es un estado de emaciación extrema; es el resultado de balance negativo de energía durante un periodo prolongado. No sólo las reservas de grasa del cuerpo se han agotado, sino que también hay emaciación de músculo, y a medida que progresa el estado hay pérdida de proteína del corazón, el hígado y los riñones. Los aminoácidos liberados por el catabolismo de proteínas hísticas se usan como una fuente de combustible metabólico y como sustratos para la gluconeogénesis a fin de mantener un aporte de glucosa para el cerebro y los eritrocitos (cap. 20). Como resultado de la síntesis reducida de proteínas, hay alteración de la respuesta inmunitaria y más riesgo de infecciones. Ocurre deterioro de la proliferación celular en la mucosa intestinal, lo que da por resultado disminución de la superficie de la mucosa intestinal, y reducción de la absorción de tantos nutrientes como estén disponibles.

Los pacientes con cáncer avanzado y SIDA están desnutridos

Los pacientes con cáncer avanzado, infección por VIH y SIDA, y con varias otras enfermedades crónicas, suelen tener nutrición insuficiente, estado llamado **caquexia.** Desde el punto de vista físico, muestran todos los signos del marasmo, pero hay bastante más pérdida de proteína corporal que en la inanición. La secreción de citocinas en respuesta a infección y cáncer aumenta el catabolismo de proteína hística por la vía de la ubiquitina-proteasoma dependiente de ATP, de modo que aumenta el gasto de energía. Esto difiere del marasmo, en el cual la síntesis de proteína está reducida, pero el catabolismo no está afectado. Los pacientes son **hipermetabólicos,** esto es, tienen un aumento considerable del índice metabólico basal. Además de la activación de la vía de ubiquitina-proteasoma del catabolismo de proteína, otros tres factores están involucrados. Muchos tumores metabolizan glucosa de manera anaeróbica para liberar lactato; este último a continuación se usa para la gluconeogénesis en el hígado, que consume energía con un costo neto de 6 ATP por cada mol de glucosa que entra en el ciclo (fig. 20-4). Hay aumento de la estimulación de **proteínas desacopladoras** por **citocinas,** lo que lleva a termogénesis y aumento de la oxidación de combustibles metabólicos. Ocurre **ingreso inútil de lípidos** a ciclo porque la lipasa sensible a hormona es activada por un proteoglucano secretado por tumores, lo que da por resultado la liberación de ácidos grasos desde el tejido adiposo, y reesterificación (con un costo de ATP) hacia triacilgliceroles en el hígado, que se exportan en VLDL.

El kwashiorkor afecta a niños que tienen nutrición insuficiente

Además de la emaciación del tejido muscular, la pérdida de mucosa intestinal y respuestas inmunitarias alteradas que se observan en el marasmo, los niños con **kwashiorkor** muestran varios datos típicos. La característica que define el problema es el **edema,** relacionado con decremento de la concentración de proteínas plasmáticas. Además, hay agrandamiento del hígado como resultado de acumulación de grasa. Antes se creía que la causa del kwashiorkor era falta de proteína, con ingreso más o menos adecuado de energía; sin embargo, el análisis de las dietas de los niños afectados muestra que no es así. Los niños con kwashiorkor están menos raquíticos que aquellos con marasmo, y el edema empieza a disminuir en etapas tem-

pranas del tratamiento, cuando el niño aún está recibiendo una dieta con bajo contenido de proteína.

Con mucha frecuencia, una infección precipita el kwashiorkor. Superpuesta sobre la deficiencia general de alimento, probablemente hay una deficiencia de nutrientes antioxidantes, como cinc, cobre, caroteno y vitaminas C y E. La **explosión respiratoria** en respuesta a infección lleva a la producción de oxígeno y **radicales libres** halógeno como parte de la acción citotóxica de macrófagos estimulados. Este estrés oxidante añadido bien puede desencadenar kwashiorkor (cap. 54).

REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y AMINOÁCIDO

Los requerimientos de proteína pueden determinarse al medir el balance de nitrógeno

El estado de nutrición en cuanto a proteína puede determinarse al medir la ingestión en la dieta y el egreso de compuestos nitrogenados desde el cuerpo. Aunque los ácidos nucleicos también contienen nitrógeno, la proteína es la principal fuente de nitrógeno en la dieta, y la medición de la ingestión total de nitrógeno da un buen estimado de la ingestión de proteína (miligramos de N × 6.25 = miligramos de proteína, puesto que N es 16% de casi todas las proteínas). El egreso de N desde el cuerpo ocurre principalmente en la urea, y en cantidades menores de otros compuestos en la orina, proteína no digerida en las heces; también pueden perderse cantidades importantes en el sudor y en la piel descamada. La diferencia entre el ingreso y el egreso de compuestos nitrogenados se conoce como el **balance de nitrógeno**. Pueden definirse tres estados. En un adulto sano, el balance de nitrógeno está en **equilibrio**, cuando el ingreso es igual al egreso, y no hay cambio del contenido corporal total de proteína. En un niño en crecimiento, una embarazada, o una persona en recuperación luego de pérdida de proteína, la excreción de compuestos nitrogenados es menor que la ingestión en la dieta, y hay retención neta de nitrógeno en el cuerpo como proteína: **balance positivo de nitrógeno**. En respuesta a traumatismo o infección, o si la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer los requerimientos, hay pérdida neta de nitrógeno de proteína desde el cuerpo: **balance negativo de nitrógeno**. Salvo cuando se remplazan las pérdidas de proteína, el equilibrio de nitrógeno puede mantenerse a cualquier nivel de ingestión de proteína por arriba de los requerimientos. Una ingestión alta de proteína no lleva a balance positivo de nitrógeno; aunque aumenta el índice de síntesis de proteína, también aumenta el índice de catabolismo de proteína, de modo que el equilibrio de nitrógeno se mantiene, aunque con un índice más alto de recambio de proteína.

El catabolismo continuo de proteínas hísticas crea el requerimiento de proteína en la dieta, incluso en un adulto que no está creciendo; aunque algunos de los aminoácidos liberados se pueden reutilizar, gran parte se usa para la gluconeogénesis en el estado de ayuno. Estudios sobre el balance de nitrógeno muestran que el requerimiento diario promedio es de 0.66 g de proteína/kg de peso corporal (se permite 0.825 para variación individual), aproximadamente 55 g/día, o 0.825% del ingreso de energía. Las ingestiones promedio de proteína en países desarrollados son del orden de 80 a 100 g/día, esto es, 14 a 15% del ingreso de energía. Dado que en los niños en crecimiento la proteína en el cuerpo está aumentando, tienen un requerimiento proporcionalmente mayor que los adultos, y deben estar en balance positivo de nitrógeno. Aun así, la necesidad es relativamente pequeña en comparación con el requerimiento para recambio de proteína. En algunos países, la ingestión de proteína es inadecuada para satisfacer estos requerimientos, lo que da por resultado cese del crecimiento.

Hay pérdida de proteína corporal en respuesta a traumatismo e infección

Una de las reacciones metabólicas a un traumatismo importante, como una quemadura, una fractura de una extremidad, o intervención quirúrgica, es un aumento del catabolismo neto de proteínas hísticas, en respuesta a citocinas y hormonas glucocorticoides, y como resultado de utilización excesiva de treonina y cisteína en la síntesis de **proteínas de fase aguda**. Hasta 6 a 7% de la proteína corporal total puede perderse al cabo de 10 días. El reposo prolongado en cama da por resultado pérdida considerable de proteína debido a atrofia de músculos. El catabolismo de proteína puede estar aumentado en respuesta a citocinas y sin el estímulo del ejercicio no se remplaza por completo. La proteína perdida se remplaza durante la **convalecencia,** cuando hay balance positivo de nitrógeno. Una dieta normal es adecuada para permitir este remplazo.

El requerimiento no es sólo de la proteína, sino de aminoácidos específicos

No todas las proteínas son equivalentes desde el punto de vista nutricional. Se necesita una cantidad mayor de algunas que de otras para mantener el balance de nitrógeno porque diferentes proteínas contienen diferentes cantidades de los diversos aminoácidos. El requerimiento del cuerpo consta de aminoácidos en las proporciones correctas para remplazar proteínas hísticas. Los aminoácidos pueden dividirse en dos grupos: **esenciales** y **no esenciales**. Hay nueve aminoácidos esenciales o indispensables, que no se pueden sintetizar en el cuerpo: histidina, isoleucina, leucina, glicina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Si uno de ellos falta o es inadecuado, al margen de la ingestión total de proteína, será imposible mantener el balance de nitrógeno, puesto que no habrá una cantidad suficiente de ese aminoácido para la síntesis de proteína.

Dos aminoácidos, la cisteína y tirosina, se pueden sintetizar en el cuerpo, pero sólo a partir de aminoácidos esenciales precursores, cisteína a partir de metionina, y tirosina a partir de fenilalanina. Las ingestiones de cisteína y tirosina en la dieta deben afectar los requerimientos de metionina y fenilalanina. Los 11 aminoácidos restantes en las proteínas se consideran no esenciales o dispensables, porque pueden sintetizarse en tanto haya proteína total suficiente en la dieta. Si se omite uno de estos aminoácidos de la dieta, aún puede mantenerse el balance de nitrógeno. Sin embargo, sólo tres aminoácidos: alanina, aspartato y glutamato, puede considerarse que son en verdad dispensables; se sintetizan a partir de intermediarios metabólicos comunes (piruvato, oxaloacetato y cetoglutarato, respectivamente). Los aminoácidos restantes se consideran no esenciales, pero en algunas circunstancias el requerimiento puede sobrepasar la capacidad de síntesis.

RESUMEN

- La digestión comprende hidrólisis de moléculas de alimento hacia moléculas de menor tamaño para absorción a través del epitelio gastrointestinal. Los polisacáridos se absorben como monosacáridos, los triacilgliceroles como 2-monoacilgliceroles, ácidos grasos y glicerol, y las proteínas como aminoácidos.
- Los trastornos digestivos surgen como resultado de: 1) deficiencia enzimática, por ejemplo, lactasa y sacarasa; 2) malabsorción, por ejemplo, de glucosa y galactosa como resultado de defectos del cotransportador de Na^+-glucosa (SGLT 1); 3) absorción de polipéptidos no hidrolizados que lleva a respuestas inmunitarias, por ejemplo, en la enfermedad celiaca, y 4) precipitación de colesterol desde la bilis como cálculos biliares.
- Además de agua, la dieta debe proporcionar combustibles metabólicos (carbohidrato y grasa) para el crecimiento y la actividad corporales, proteína para la síntesis de proteínas hísticas, fibra para formación de volumen, minerales para funciones metabólicas específicas, ciertos ácidos grasos poliinsaturados de las familias de n-3 y n-6, y vitaminas, compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para otras funciones esenciales.
- Se requieren 20 aminoácidos diferentes para llevar a cabo la síntesis de proteína, de los cuales nueve son esenciales en la dieta del ser humano. La cantidad de proteína requerida está influida por la calidad de la proteína, el ingreso de energía, y la actividad física.
- Hay dos formas extremas de nutrición insuficiente: marasmo, en adultos y niños, y kwashiorkor en niños. La nutrición excesiva lleva a exceso de ingreso de energía, y se relaciona con enfermedades como obesidad, diabetes mellitus no insulinodependiente, aterosclerosis, cáncer e hipertensión.

REFERENCIAS

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook.* Oxford University Press, 1997.

Fuller MF, Garllick PJ: Human amino acid requirements: can the controversy be resolved? Ann Rev Nutr 1994;14:217.

Geissler C, Powers HJ: *Human Nutrition*. 11th ed. Elsevier, 2005.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients).* National Academies Press, 2002.

Pencharz PB, Ball RO: Different approaches to define individual amino acid requirements. Ann Rev Nutr 2003;23:101.

Royal College of Physicians: *Nutrition and Patients—A Doctor's Responsibility.* Royal College of Physicians, 2002.

Swallow DM: Genetic influences on carbohydrate digestion. Nutr Res Rev 2003;16:37.

World Health Organization Technical Report Series 894: *Obesity—Preventing and Managing the Global Epidemic.* WHO, 2000.

World Health Organization Technical Report Series 916: *Diet and the Prevention of Chronic Diseases.* WHO, 2003.

C A P Í T U L O

44

Micronutrientes: vitaminas y minerales

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las vitaminas son un grupo de nutrientes orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para diversas funciones bioquímicas que, en general, no se pueden sintetizar en el organismo y, en consecuencia, deben encontrarse en la dieta.

Las vitaminas liposolubles son compuestos hidrofóbicos que sólo pueden absorberse con eficiencia cuando hay absorción normal de grasa. Al igual que otros lípidos, se transportan en la sangre en lipoproteínas o fijas a proteínas de unión específicas. Tienen diversas funciones; p. ej., vitamina A, visión y diferenciación celular; vitamina D, metabolismo del calcio y el fosfato, y diferenciación celular; vitamina E, antioxidante, y vitamina K, coagulación de la sangre. Al igual que la dieta insuficiente, las enfermedades o estados que afectan la digestión y absorción de las vitaminas liposolubles, como esteatorrea y trastornos del sistema biliar, pueden llevar a síndromes de deficiencia, entre ellos ceguera nocturna y xeroftalmía (vitamina A); raquitismo en niños de corta edad y osteomalacia en adultos (vitamina D); trastornos neurológicos y anemia hemolítica del recién nacido (vitamina E) y enfermedad hemorrágica del recién nacido (vitamina K). La toxicidad puede producirse por ingestión excesiva de vitaminas A y D. La vitamina A y los carotenos (muchos de los cuales son precursores de la vitamina A), y la vitamina E, son antioxidantes (cap. 45) y tienen posibles funciones en la prevención de ateroesclerosis y cáncer.

Las vitaminas hidrosolubles están compuestas de las vitaminas B y la vitamina C, funcionan principalmente como cofactores de enzimas. El ácido fólico actúa como un acarreador de unidades de un carbono. La deficiencia de una sola vitamina del complejo B es rara, dado que las dietas inadecuadas se relacionan más a menudo con **estados de deficiencia múltiple**. Sin embargo, los síndromes específicos son característicos de deficiencias de vitaminas individuales, por ejemplo, el beriberi (tiamina); queilosis, glositis, seborrea (riboflavina); pelagra (niacina); anemia megaloblástica, aciduria metilmalónica, y anemia perniciosa (vitamina B_{12}); anemia megaloblástica (ácido fólico), y escorbuto (vitamina C).

Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben hallarse en la dieta. Cuando la ingestión es insuficiente, pueden surgir signos de deficiencia, por ejemplo, anemia (hierro) y cretinismo y bocio (yodo). Las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

La determinación de los requerimientos de micronutrientes depende de los criterios de suficiencia elegidos

Para cualquier nutriente, hay un rango de ingestiones entre la que es claramente inadecuada, lo que conduce a **enfermedad clínica por deficiencia**, y la que excede tanto la capacidad metabólica del organismo que puede haber signos de **toxicidad**. Entre estos dos extremos hay un nivel de ingestión que es adecuado para la salud normal y el mantenimiento de la integridad metabólica. No todos los individuos tienen el mismo requerimiento de nutrientes, incluso cuando se calcula con base en el tamaño del cuerpo o el gasto de energía. Hay una gama de requerimientos individuales de hasta 25% alrededor de la media. Por ende, para evaluar la suficiencia de las dietas, es necesario establecer un nivel de referencia de ingestión lo bastante alto como para asegurar que nadie sufra deficiencia ni tenga riesgo de toxicidad. Si se supone que los requerimientos individuales están distribuidos de un modo estadísticamente normal alrededor del requerimiento medio observado, un rango de $\pm 2 \times$ la desviación estándar (SD) alrededor de la media incluye los requerimientos de 95% de la población. Por consiguiente, las ingestiones de referencia o recomendadas se establecen en el requerimiento promedio más $2 \times$ SD y, así, satisfacen o exceden los requerimientos de 97.5% de la población.

LAS VITAMINAS SON UN GRUPO DISPAR DE COMPUESTOS CON DIVERSAS FUNCIONES METABÓLICAS

Una vitamina se define como un compuesto orgánico que se necesita en la dieta en pequeñas cantidades para el mantenimiento de la integridad metabólica normal. La deficiencia da por resultado una enfermedad específica, que sólo se cura o previene al restituir la vitamina a la dieta (cuadro 44-1). Empero, la **vitamina D**, que se forma en la piel a partir del 7-dehidrocolesterol en el momento de la exposición a la luz solar, y la **niacina**, que puede formarse a partir del aminoácido esencial triptófano, no satisfacen estrictamente esta definición.

CUADRO 44-1 Las vitaminas

Vitamina		Funciones	Enfermedad por deficiencia
Liposoluble			
A	Retinol, β caroteno	Pigmentos visuales en la retina; regulación de la expresión de gen y la diferenciación celular (el β-caroteno es un antioxidante)	Ceguera nocturna, xeroftalmía; queratinización de la piel
D	Calciferol	Mantenimiento del equilibrio del calcio; incrementa la absorción intestinal de Ca^{2+} y moviliza mineral óseo; regulación de la expresión de gen y la diferenciación celular	Raquitismo = mineralización inadecuada de hueso; osteomalacia = desmineralización de hueso
E	Tocoferol, tocotrienoles	Antioxidante, particularmente en membranas celulares; funciones en la emisión de señales celulares	En extremo rara: disfunción neurológica grave
K	Filoquinona: menaquinonas	Coenzima en la formación de γ-carboxi-glutamato en enzimas de la coagulación de la sangre y la matriz ósea	Alteración de la coagulación de la sangre, enfermedad hemorrágica
Hidrosoluble			
B_1	Tiamina	Coenzima en la piruvato y α-cetoglutarato deshidrogenasas, y transcetolasa; regula el canal de Cl^- en la conducción nerviosa	Daño de nervio periférico (beriberi) o lesiones en el sistema nervioso central (síndrome de Wernicke-Korsakoff)
B_2	Riboflavina	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción (FAD y FMN); grupo prostético de flavoproteínas	Lesiones de los ángulos de la boca, los labios y la lengua, dermatitis seborreica
Niacina	Ácido nicotínico, nicotinamida	Coenzima en reacciones de oxidación y reducción, parte funcional de NAD y NADP; función en la regulación del calcio intracelular y la emisión de señales de célula	Pelagra: dermatitis fotosensible, psicosis depresiva
B_6	Piridoxina, piridoxal, piridoxamina	Coenzima en la transaminación y descarboxilación de aminoácidos y glucógeno fosforilasa; modulación de la acción de hormona esteroide	Trastornos del metabolismo de aminoácidos, convulsiones
	Ácido fólico	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono	Anemia megaloblástica
B_{12}	Cobalamina	Coenzima en la transferencia de fragmentos de un carbono y el metabolismo de ácido fólico	Anemia perniciosa = anemia megaloblástica con degeneración de la médula espinal
	Ácido pantoténico	Parte funcional de la CoA y proteína acarreadora de acilo; síntesis y metabolismo de ácido graso	Daño de nervio periférico (melalgia nutricional o "síndrome del pie urente")
H	Biotina	Coenzima en reacciones de carboxilación en la gluconeogénesis y la síntesis de ácido graso; función en la regulación del ciclo celular	Alteración del metabolismo de grasa y carbohidrato, dermatitis
C	Ácido ascórbico	Coenzima en la hidroxilación de prolina y lisina en la síntesis de colágeno; antioxidante; aumentar la absorción de hierro	Escorbuto: alteración de la cicatrización de heridas, pérdida del cemento dental, hemorragia subcutánea

VITAMINAS LIPOSOLUBLES

DOS GRUPOS DE COMPUESTOS TIENEN ACTIVIDAD DE VITAMINA A

Los retinoides comprenden el **retinol**, el **retinaldehído** y el **ácido retinoico** (vitamina A preformada, que sólo se encuentra en alimentos de origen animal); los carotenoides, que se encuentran en vegetales, constan de carotenos y compuestos relacionados; muchos son precursores de la vitamina A, puesto que se pueden dividir para dar retinaldehído, y después retinol y ácido retinoico (fig. 44-1). Los α-, β- y γ- carotenos y la criptoxantina son desde el punto de vista cuantitativo los carotenoides provitamina A más importantes. Aun cuando parecería ser que una molécula de β caroteno debe dar dos de retinol, no es así en la práctica; 6 μg de β-caroteno son equivalentes a 1 μg de retinol preformado. Por tanto, la cantidad total de vitamina A en los alimentos se expresa como microgramos de equivalentes de retinol. El β-caroteno y otros carotenoides o provitamina A se dividen en la mucosa intestinal por medio de la caroteno dioxigenasa, lo que da retinaldehído, que se reduce hacia retinol, se esterifica y secreta en quilomicrones junto con ésteres formados a partir del retinol de la dieta. La actividad intestinal de la caroteno dioxigenasa es baja, de manera que una proporción relativamente

FIGURA 44-1 β-caroteno y los principales vitámeros de la vitamina A. El asterisco muestra el sitio de división del β-caroteno por la caroteno dioxigenasa, para dar retinaldehído.

grande del β-caroteno ingerido puede aparecer en la circulación sin cambios. Si bien el principal sitio de ataque de la caroteno dioxigenasa es el enlace central del β-caroteno, también puede ocurrir división asimétrica, lo que da pie a la formación de 8′-, 10′- y 12′-apocarotenales, que se oxidan hacia ácido retinoico, pero no pueden usarse como fuentes de retinol o retinaldehído.

La vitamina A tiene una función en la visión

En la retina, el retinaldehído funciona como el grupo prostético de proteínas opsina sensibles a la luz, lo que forma **rodopsina** (en bastones) y **iodopsina** (en conos). Cualquier célula de cono sólo contiene un tipo de opsina y es sensible a sólo un color. En el epitelio pigmentado de la retina, el todo-*trans*-retinol se isomeriza hacia 11-*cis*-retinol y se oxida hacia 11-*cis*-retinaldehído, el cual reacciona con un residuo lisina en la opsina, lo que forma la holoproteína rodopsina. La absorción de luz por la rodopsina origina isomerización del retinaldehído desde 11-*cis* hacia todo-*trans* y un cambio conformacional de la opsina (fig. 44-2). Esto causa la liberación de retinaldehído desde la proteína y el inicio de un impulso nervioso. La forma excitada inicial de la rodopsina, la batorrodopsina, se sintetiza en el transcurso de picosegundos luego de iluminación. Después hay una serie de cambios conformacionales que llevan a la formación de metarrodopsina II, que inicia una cascada de amplificación de nucleótido guanina y después un impulso nervioso. El paso final es la hidrólisis para liberar todo-*trans*-retinaldehído y opsina. La clave para el inicio del ciclo visual es la disponibilidad de 11-*cis*-retinaldehído y, en consecuencia, vitamina A. Cuando hay deficiencia, el tiempo que se requiere para adaptarse a la oscuridad está aumentado y hay menor capacidad para ver cuando hay poca luz.

El ácido retinoico participa en la regulación de la expresión de gen y en la diferenciación de tejido

Una función importante de la vitamina A yace en el control de la diferenciación y el recambio celulares. El ácido todo-*trans*-retinoico y el ácido 9-*cis*-retinoico (fig. 44-1) regulan el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de tejido; tienen diferentes acciones en distintos tejidos. Al igual que las hormonas tiroideas y esteroides y la vitamina D, el ácido retinoico se une a receptores nucleares que se unen a elementos de respuesta del DNA y regulan la transcripción de genes específicos. Hay dos familias de receptores de retinoides nucleares: los receptores de ácido retinoico (RAR) se unen a ácidos todo-*trans*-retinoico o ácidos 9-*cis*-retinoico, y los receptores X retinoide (RXR) se unen al ácido 9-*cis*-retinoico. Asimismo, los receptores X retinoides forman dímeros con vitamina D, hormona tiroidea, y otros receptores de hormona de acción nuclear. La deficiencia de vitamina A altera la función de la vitamina debido a falta de ácido 9-*cis*-retinoico para formar dímeros de receptor, mientras que la vitamina A excesiva también altera la función de la vitamina D, debido a formación de RXR-homodímeros, lo que significa que no hay suficiente RXR disponible para formar heterodímeros con el receptor de vitamina D.

FIGURA 44-2 La función del retinaldehído en el ciclo visual.

La deficiencia de vitamina A es un importante problema de salud pública en todo el mundo

La deficiencia de vitamina A es la causa prevenible más importante de ceguera. El signo más temprano de deficiencia es una pérdida de la sensibilidad a la luz verde, seguida por deterioro de la adaptación a la luz tenue, seguido por ceguera nocturna. La deficiencia más prolongada conduce a **xeroftalmía**: queratinización de la córnea y ceguera. La vitamina A también tiene una función importante en la diferenciación de las células del sistema inmunitario, e incluso la deficiencia leve da pie a incremento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas. Asimismo, la síntesis de proteína de unión a retinol disminuye en respuesta a infección (es una **proteína de fase aguda** negativa), lo que causa decremento de la concentración circulante de la vitamina, y altera más las respuestas inmunitarias.

El exceso de vitamina A es tóxico

La capacidad para metabolizar vitamina A es limitada, y la ingestión excesiva lleva a acumulación más allá de la capacidad de las proteínas de unión, de modo que la vitamina A no unida suscita daño de tejidos. Los síntomas de toxicidad afectan: el sistema nervioso central (cefalalgia, náuseas, ataxia y anorexia, todas relacionadas con aumento de la presión del líquido cefalorraquídeo); el hígado (hepatomegalia con cambios histológicos e hiperlipidemia); homeostasis del calcio (engrosamiento de los huesos largos, hipercalcemia y calcificación de tejidos blandos) y la piel (resequedad excesiva, descamación y alopecia).

LA VITAMINA D EN REALIDAD ES UNA HORMONA

La vitamina D no es estrictamente una vitamina, porque puede sintetizarse en la piel, y en la mayor parte de las circunstancias ésa es la principal fuente de la vitamina. Sólo cuando la exposición a la luz solar es inadecuada se necesita una fuente en la dieta. Su principal función es la regulación de la absorción y la homeostasis del calcio; la mayor parte de sus acciones están mediadas por receptores nucleares que regulan la expresión de gen. También participa en la regulación de la proliferación y diferenciación celulares. Hay evidencia de que las ingestiones mucho más altas que las requeridas para mantener la homeostasis del calcio aminoran el riesgo de resistencia a la insulina, obesidad y el síndrome metabólico, así como de diversos cánceres. La deficiencia, que conduce a raquitismo en niños y osteomalacia en adultos, aún es un problema en latitudes del Norte, donde la exposición a la luz solar es inadecuada.

La vitamina D se sintetiza en la piel

El 7-dehidrocolesterol (un intermediario en la síntesis de colesterol que se acumula en la piel) pasa por una reacción no enzimática en el momento de la exposición a luz ultravioleta, lo que da previtamina D (fig. 44-3). Ésta pasa por una reacción adicional en un periodo de horas para formar colecalciferol, que se absorbe hacia el torrente sanguíneo. En climas templados, la concentración plasmática de vitamina D es más alta al final del verano, y más baja al final del invierno. Más allá de latitudes alrededor de 40° norte o sur hay muy poca radiación ultravioleta de la longitud de onda apropiada durante el invierno.

La vitamina D se metaboliza hacia el metabolito activo, calcitriol, en el hígado y los riñones

El colecalciferol, sea sintetizado en la piel o proveniente de los alimentos, pasa por dos hidroxilaciones para dar el metabolito activo, 1,25-dihidroxivitamina D o calcitriol (fig. 44-4). El ergocalciferol proveniente de alimentos enriquecidos pasa por hidroxilación similar para dar ercalcitriol. En el hígado, el colecalciferol se hidroxila para formar el derivado 25-hidroxi, calcidiol, el cual se libera hacia la circulación unido a una globulina de unión a vitamina D, que es la principal forma de almacenamiento de la vitamina. En los riñones, el calcidiol pasa por 1-hidroxilación para producir el metabolito activo 1,25-dihidroxi-vitamina D (calcitriol), o 24-hidroxilación para originar un metabolito probablemente inactivo, la 24,25-dihidroxivitamina D (24-hidroxicalcidiol).

El metabolismo de la vitamina D está regulado por la homeostasis del calcio y, a su vez, la regula

La principal función de la vitamina D yace en el control de la homeostasis del calcio y, a su vez, el metabolismo de la vitamina D está regulado por factores que muestran respuesta a las cifras plasmáticas de calcio y fosfato. El calcitriol actúa para reducir su propia síntesis al inducir la 24-hidroxilasa y reprimir la 1-hidroxilasa en los riñones. La principal función de la vitamina D es mantener la concentración plasmática de calcio. El calcitriol logra esto de tres maneras: incrementa la absorción intestinal de calcio; disminuye la excreción de calcio (al estimular la resorción en los túbulos renales distales) y moviliza mineral óseo. Además, el calcitriol participa en la secreción de insulina, la síntesis y secreción de hormonas paratiroidea y tiroidea, la inhibición de la producción de interleucina por linfocitos T activados y de inmunoglobulina por linfocitos B activados, la diferenciación de células precursoras de monocitos y la

FIGURA 44-3 La síntesis de vitamina D en la piel.

FIGURA 44-4 Metabolismo de la vitamina D.

modulación de la proliferación celular. En casi todas estas acciones actúa como una hormona esteroide, al unirse a receptores nucleares y aumentar la expresión de gen, aunque también tiene efectos rápidos sobre transportadores de calcio en la mucosa intestinal. En el capítulo 47 se presentan más detalles de la participación del calcitriol en la homeostasis del calcio.

La deficiencia de vitamina D afecta a niños y adultos

En el estado de deficiencia de vitamina D, **raquitismo**, los huesos de los niños tienen mineralización insuficiente como resultado de absorción inadecuada de calcio. Suceden problemas similares como resultado de deficiencia durante el brote de crecimiento propio de la adolescencia. La **osteomalacia** en adultos se produce por la desmineralización de hueso, especialmente en mujeres que tienen poca exposición a la luz solar, en particular luego de varios embarazos. Aun cuando la vitamina D es esencial para la prevención y el tratamiento de osteomalacia en ancianos, hay poca evidencia de que sea beneficiosa en el tratamiento de **osteoporosis**.

El exceso de vitamina D es tóxico

Algunos lactantes son sensibles a ingestiones de vitamina D de apenas 50 μg/día, lo que produce cifras plasmáticas altas de calcio. Esto puede llevar a contracción de vasos sanguíneos, presión arterial alta y **calcinosis**, la calcificación de tejidos blandos. Si bien el exceso de vitamina D en la dieta es tóxico, la exposición excesiva a la luz solar no da pie a intoxicación por vitamina D, porque hay una capacidad limitada para formar el precursor, 7-dehidrocolesterol, y la exposición prolongada de la previtamina D a la luz solar lleva a la formación de compuestos inactivos.

LA VITAMINA E NO TIENE UNA FUNCIÓN METABÓLICA DEFINIDA CON PRECISIÓN

No se ha definido una función singular inequívoca para la vitamina E. Actúa como un antioxidante liposoluble en membranas celulares, donde muchas de sus funciones pueden ser proporcionadas por antioxidantes sintéticos, y tiene importancia en el mantenimiento de la fluidez de las membranas celulares. También tiene una participación (hasta cierto punto poco definida) en la emisión de señales celulares. Vitamina E es el término descriptivo genérico para dos familias de compuestos, los **tocoferoles** y los **tocotrienoles** (fig. 44-5). Los diferentes vitámeros tienen distinta potencia biológica; el más activo es el d-α-tocoferol, y es usual expresar la ingestión de vitamina E en términos de miligramos de equivalentes de d-α-tocoferol. El tocoferol dl-α-sintético no tiene la misma potencia biológica que el compuesto natural.

FIGURA 44-5 Vitámeros de la vitamina E. En el α-tocoferol y el tocotrienol R_1, R_2 y R_3 son grupos —CH_3. En los β-vitámeros R_2 es H, en los γ-vitámeros R_1, es H, y en los Δ-vitámeros tanto R_1 como R_2 son H.

La vitamina E es el principal antioxidante liposoluble en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas

La principal función de la vitamina E es como un antioxidante que rompe cadenas y que atrapa radicales libres en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas al reaccionar con los radicales peróxido lípido formados por peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados (cap. 45). El producto radical tocoferoxilo es relativamente no reactivo, y finalmente forma compuestos no radicales. Por lo común el radical tocoferoxilo se reduce de regreso hacia tocoferol mediante reacción con vitamina C proveniente del plasma (fig. 44-6). El

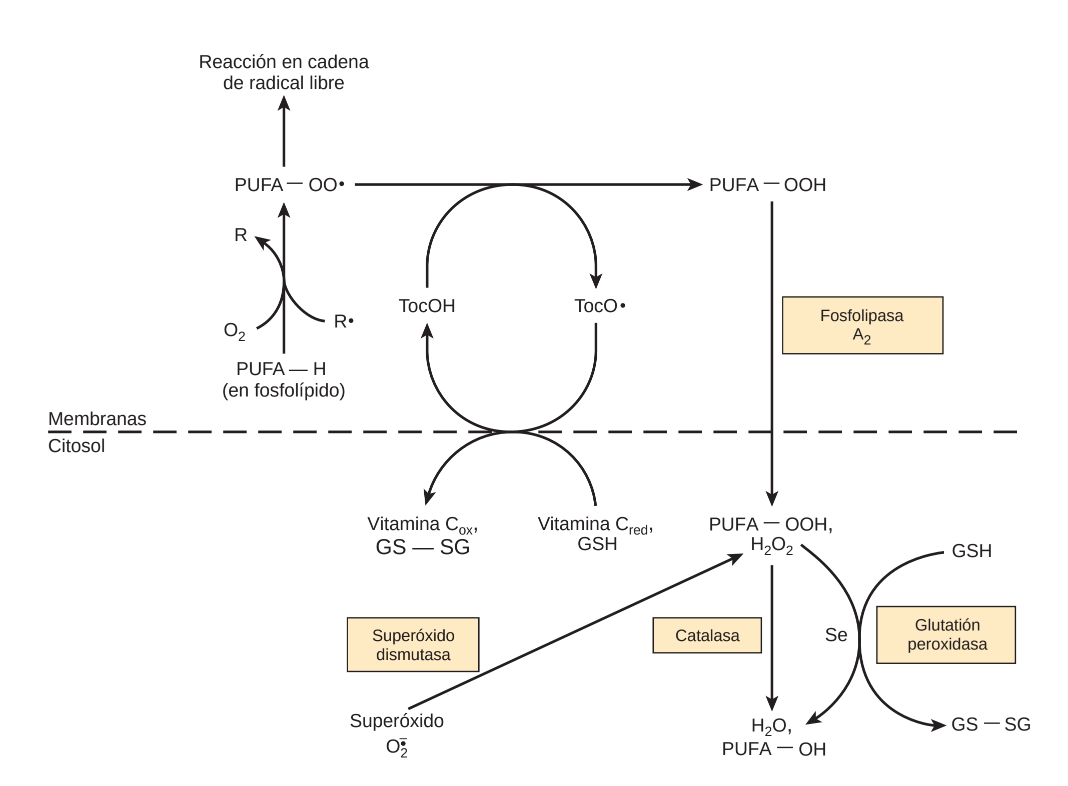


FIGURA 44-6 Interacción entre antioxidantes en la fase lípida (membranas celulares) y la fase acuosa (citosol). (R•, radical libre; PUFA-OO•, radical peroxilo de ácido graso poliinsaturado en fosfolípido de membrana; PUFA-OOH, ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi en fosfolípido de membrana, liberado hacia el citosol como ácido graso poliinsaturado hidroxiperoxi por medio de la acción de la fosfolipasa A_2; PUFA-OH, ácido graso poliinsaturado hidroxi; Toc-OH vitamina E [α-tocoferol]; TocO•, radical tocoferoxilo; Se, selenio; SSH, glutatión reducido; GS-SG, glutatión oxidado, que se reduce a GSH después de reacción con NADPH, catalizada por la glutatión reductasa; PUFA-H, ácido graso poliinsaturado.)

radical monodesoxiascorbato resultante después pasa por reacción enzimática o no enzimática para dar ascorbato y dehidroascorbato, ninguno de los cuales es un radical.

Deficiencia de vitamina E

En animales de experimentación, la deficiencia de vitamina E ocasiona resorción de fetos y atrofia testicular. La deficiencia de vitamina E en la dieta en seres humanos se desconoce, aunque los pacientes con malabsorción grave de grasas, fibrosis quística y algunas formas de enfermedad crónica del hígado sufren deficiencia porque son incapaces de absorber la vitamina o de transportarla, y muestran daño de membrana de nervios y músculos. Los prematuros nacen con reservas inadecuadas de la vitamina. Las membranas de los eritrocitos son anormalmente frágiles como resultado de peroxidación, lo que conduce a anemia hemolítica.

LA VITAMINA K SE REQUIERE PARA LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE COAGULACIÓN DE LA SANGRE

La vitamina K se descubrió como resultado de investigaciones sobre la causa de un trastorno hemorrágico, la enfermedad hemorrágica (por trébol de olor) del ganado vacuno y de pollos alimentados con una dieta sin grasa. El factor faltante en la dieta de los pollos fue la vitamina K, mientras que el alimento del ganado vacuno contenía **dicumarol**, un antagonista de la vitamina. Los antagonistas de la vitamina K se usan para reducir la coagulación de la sangre en quienes tienen riesgo de trombosis; el de uso más amplio es la **warfarina**.

Tres compuestos tienen la actividad biológica de la vitamina K (fig. 44-7): **filoquinona**, la fuente normal en la dieta, que se encuentra en verduras de color verde; **menaquinonas**, sintetizadas por las bacterias intestinales, con longitudes de cadena larga que difieren, y **menadiona** y diacetato de menadiol, compuestos sintéticos que pueden metabolizarse hacia filoquinona. Las menaquinonas se absorben hasta cierto grado, pero no está claro hasta qué punto tienen actividad biológica, dado que es posible inducir signos de deficiencia de vitamina K simplemente al suministrar una dieta con deficiencia de filoquinona, sin inhibir la acción bacteriana intestinal.

Filoquinona

Menaquinona

Menadiol

Diacetato de menadiol (acetomenaftona)

FIGURA 44-7 Los vitámeros de la vitamina K. El menadiol (o menadiona) y el diacetato de menadiol son compuestos sintéticos que se convierten en menaquinona en el hígado.

La vitamina K es la coenzima para la carboxilación de glutamato en la modificación postsintética de proteínas de unión a calcio

La vitamina K es el cofactor para la carboxilación de residuos glutamato en la modificación postsintética de proteínas para formar el aminoácido poco común γ-carboxiglutamato (Gla) (fig. 44-8). Inicialmente, la vitamina K hidroquinona se oxida hacia el epóxido, que activa un residuo glutamato en el sustrato proteínico hacia un carbanión, que reacciona de modo no enzimático con dióxido de carbono para formar γ-carboxiglutamato. La vitamina K epóxido se reduce hacia la quinona por medio de una reductasa sensible a warfarina, y la quinona se reduce hacia la hidroquinona activa mediante la misma reductasa sensible a warfarina o una quinona reductasa insensible a warfarina. En presencia de warfarina es imposible reducir la vitamina K epóxido, pero se acumula y se excreta. Si se proporciona suficiente vitamina K (como la quinona) en la dieta, puede reducirse hacia la hidroquinona activa por medio de la enzima insensible a warfarina, y la carboxilación puede continuar, con utilización estoiquiométrica de vitamina K y excreción del epóxido. Una dosis alta de vitamina K es el antídoto para una sobredosis de warfarina.

La protrombina y varias otras proteínas del sistema de coagulación de la sangre (factores VIII, IX y X, y proteínas C y S, cap. 50) contienen, cada una, de 4 a 6 residuos γ-carboxiglutamato. El γ-carboxiglutamato produce quelación de iones de calcio y, de esta manera, permite la unión de las proteínas de la coagulación de la sangre a membranas. En la deficiencia de vitamina K, o en presencia de warfarina, se libera hacia la circulación un precursor anormal de la protrombina (preprotrombina) que contiene poco γ-carboxiglutamato o no lo contiene, y que es incapaz de quelar calcio.

FIGURA 44-8 Función de la vitamina K en la síntesis de γ-carboxiglutamato.

La vitamina K también es importante en la síntesis de proteínas de unión a calcio óseo

El tratamiento de mujeres embarazadas con warfarina puede llevar a anormalidades óseas fetales (síndrome fetal por warfarina). Dos proteínas que contienen γ-carboxiglutamato se encuentran en el hueso: la osteocalcina y la proteína Gla de matriz ósea. La osteocalcina también contiene hidroxiprolina, de modo que su síntesis depende de las vitaminas tanto K como C; más aún, su síntesis es inducida por la vitamina D. La liberación de osteocalcina hacia la circulación proporciona un índice del estado en cuanto a vitamina D.

VITAMINAS HIDROSOLUBLES

LA VITAMINA B_1 (TIAMINA) TIENE UNA FUNCIÓN CLAVE EN EL METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS

La **tiamina** tiene una función esencial en el metabolismo que genera energía, especialmente en el metabolismo de carbohidratos (fig. 44-9). El **difosfato de tiamina** es la coenzima para tres complejos de múltiples enzimas que catalizan reacciones de descarboxilación oxidativa: piruvato deshidrogenasa en el metabolismo de carbohidratos (cap. 17); α-cetoglutarato deshidrogenasa en el ciclo del ácido cítrico (cap. 17), y la cetoácido de cadena ramificada deshidrogenasa que participa en el metabolismo de la leucina, isoleucina y valina (cap. 29). En cada caso, el difosfato de tiamina proporciona un carbono reactivo en la parte triazol que forma un carbanión, que luego se agrega al grupo carbonilo, p. ej., piruvato. El compuesto añadido a continuación se descarboxila, con lo que se elimina CO_2. El difosfato de tiamina también es la coenzima para la transcetolasa, en la vía de la pentosa fosfato (cap. 21).

El trifosfato de tiamina participa en la conducción nerviosa; fosforila y, de esta manera, activa, un canal de cloruro en la membrana del nervio.

La deficiencia de tiamina afecta el sistema nervioso y el corazón

La deficiencia de tiamina puede dar por resultado tres síndromes: una neuritis periférica crónica, el **beriberi**, que puede o no mostrar vínculo con **insuficiencia cardiaca** y **edema**; beriberi pernicioso agudo (fulminante) (beriberi cardiovascular agudo [shoshin-beriberi]), en el cual predominan la insuficiencia cardiaca y anormalidades metabólicas, sin neuritis periférica, y **encefalopatía de Wernicke** con **psicosis de Korsakoff**, que se relacionan en particular con el abuso del consumo de alcohol y narcóticos. La función del difosfato de tiamina en la piruvato deshidrogenasa significa que cuando hay deficiencia se observa conversión alterada de piruvato en acetil CoA. En sujetos que consumen una dieta con contenido relativamente alto de carbohidratos, esto origina incremento de las

Tiamina Difosfato de tiamina Carbanión

FIGURA 44-9 Tiamina, difosfato de tiamina y la forma carbanión.

concentraciones plasmáticas de lactato y piruvato, lo cual puede causar acidosis **láctica** que pone en peligro la vida.

El estado nutricional en cuanto a tiamina puede evaluarse mediante la activación de la transcetolasa de eritrocitos

La activación de la apo-transcetolasa (la proteína enzima) en lisado de eritrocito por medio de difosfato de tiamina añadido *in vitro* se ha convertido en el índice aceptado del estado nutricional en cuanto a tiamina.

LA VITAMINA B_2 (RIBOFLAVINA) TIENE UNA PARTICIPACIÓN FUNDAMENTAL EN EL METABOLISMO QUE GENERA ENERGÍA

La riboflavina proporciona las porciones reactivas de las coenzimas **flavín mononucleótido (FMN)** y **flavín adenina dinucleótido (FAD)** (fig. 44-10). El FMN se forma mediante fosforilación de riboflavina dependiente de ATP, mientras que el FAD se sintetiza por medio de reacción adicional con ATP en la cual su porción AMP se transfiere a FMN. Las principales fuentes de riboflavina en la dieta son la leche y los productos lácteos. Además, debido a su intenso color amarillo, la riboflavina se utiliza ampliamente como un aditivo de alimentos.

Las coenzimas de flavina son acarreadores de electrones en reacciones de oxidorreducción

Incluyen la cadena respiratoria mitocondrial, enzimas clave en la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos, y el ciclo del ácido cítrico. La reoxidación de la flavina reducida en oxigenasas y oxidasas de función mixta procede mediante la formación del radical flavina, y flavín hidroperóxido, con la generación intermedia de radicales superóxido y perhidroxilo, y peróxido de hidrógeno. Debido a esto, las flavín oxidasas hacen una contribución importante al estrés oxidante total en el cuerpo (cap. 45).

La deficiencia de riboflavina está difundida pero no es mortal

Aun cuando la riboflavina tiene una participación fundamental en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y su deficiencia ocurre en muchos países, no es mortal, porque hay conservación muy eficiente de la riboflavina hística. La riboflavina liberada por el metabolismo de enzimas se incorpora con rapidez hacia enzimas recién sintetizadas. La deficiencia se caracteriza por queilosis, descamación e inflamación de la lengua, y una dermatitis seborreica. El estado nutricional en cuanto a riboflavina se evalúa al medir la activación de la glutatión reductasa de los eritrocitos por FAD añadido *in vitro*.

LA NIACINA NO ES ESTRICTAMENTE UNA VITAMINA

La niacina se descubrió como un nutriente durante estudios de **pelagra**. No es estrictamente una vitamina porque puede sintetizarse en el organismo a partir del aminoácido esencial triptófano. Dos compuestos, el **ácido nicotínico** y la **nicotinamida**, tienen la actividad biológica de niacina; su función metabólica es como el anillo nicotinamida de las coenzimas **NAD** y **NADP** en reacciones de oxidación/reducción (fig. 44-11). Unos 60 mg de triptófano equivalen a 1 mg de niacina en la dieta. El contenido de niacina de los alimentos se expresa como:

Miligramos de equivalentes de niacina = miligramos de niacina preformada + 1/60 × miligramos de triptófano

Riboflavina FMN FAD

FIGURA 44-10 Riboflavina y las coenzimas flavín mononucleótido (FMN) y flavín adenina dinucleótido (FAD).

Niacina (ácido nicotínico y nicotinamida). Véase también la figura 7-2

FIGURA 44-11 Niacina (ácido nicotínico y nicotinamida).

Debido a que la mayor parte de la niacina en cereales no está disponible biológicamente, dicho contenido no se toma en cuenta.

El NAD es la fuente de ADP-ribosa

Además de su función como coenzima, el NAD es la fuente de ADP-ribosa para la **ADP-ribosilación** de proteínas y poliADP-ribosilación de nucleoproteínas involucradas en el **mecanismo de reparación de DNA**. El ADP-ribosa cíclico y el ácido nicotínico adenina dinucleótido, que se forma a partir de NAD, actúan para aumentar el calcio intracelular en respuesta a neurotransmisores y hormonas.

La pelagra se produce por deficiencia de triptófano y niacina

La pelagra se caracteriza por una dermatitis fotosensible. Conforme progresa la enfermedad, hay demencia y posiblemente diarrea. La pelagra no tratada es mortal. Si bien la causa nutricional de la pelagra se encuentra bien establecida, y el triptófano o la niacina evita la enfermedad o la cura, pueden tener importancia otros factores, entre ellos la deficiencia de riboflavina o vitamina B_6, ambas necesarias para la síntesis de nicotinamida a partir del triptófano. En casi todos los brotes de pelagra, el número de mujeres afectadas es dos veces mayor que el de varones, probablemente como resultado de inhibición del metabolismo del triptófano por metabolitos de estrógeno.

La pelagra puede ocurrir como enfermedad a pesar de una ingestión adecuada de triptófano y niacina

Varias enfermedades genéticas que producen defectos del metabolismo del triptófano muestran vínculo con la aparición de pelagra, pese a una ingestión al parecer normal tanto de triptófano como de niacina. La **enfermedad de Hartnup** es un padecimiento genético raro en el cual hay un defecto del mecanismo de transporte de membrana para el triptófano, lo que ocasiona pérdidas grandes por malabsorción intestinal y fracaso del mecanismo de resorción renal. En el **síndrome carcinoide** hay metástasis de un tumor hepático primario de células enterocromafines, que sintetizan 5-hidroxitriptamina. La producción excesiva de 5-hidroxitriptamina puede explicar hasta 60% del metabolismo de triptófano en el cuerpo, y causa pelagra debido a desviación en dirección contraria a la síntesis de NAD.

El exceso de niacina es tóxico

El ácido nicotínico se ha usado para tratar hiperlipidemia, cuando se requiere del orden de 1 a 6 g/día, lo que da por resultado dilatación de vasos sanguíneos y rubor, junto con irritación de la piel. La ingestión tanto de ácido nicotínico como de nicotinamida de más de 500 mg/día también origina daño hepático.

LA VITAMINA B_6 ES IMPORTANTE EN EL METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS Y GLUCÓGENO, Y EN LA ACCIÓN DE HORMONA ESTEROIDE

Seis compuestos tienen actividad de vitamina B_6 (fig. 44-12): **piridoxina**, **piridoxal**, **piridoxamina** y sus 5′-fosfatos. La coenzima activa es el piridoxal 5′-fosfato. Alrededor de 80% de la vitamina B_6 total del organismo es fosfato de piridoxal en el músculo, en su mayor parte relacionado con glucógeno fosforilasa. Esto no se encuentra disponible cuando hay deficiencia, pero se libera en presencia de inanición, cuando las reservas de glucógeno quedan agotadas, y entonces está disponible, especialmente en el hígado y los riñones, para satisfacer el requerimiento incrementado de gluconeogénesis a partir de aminoácidos.

La vitamina B_6 tiene varias funciones en el metabolismo

El fosfato de piridoxal es una coenzima para muchas enzimas involucradas en el metabolismo de aminoácidos, en particular transaminación y descarboxilación. Asimismo, es el cofactor de la glucógeno fosforilasa, en la cual el grupo fosfato tiene importancia desde el punto de vista catalítico. Más aún, la vitamina B_6 es importante en la acción de hormonas esteroides. El fosfato de piridoxal elimina el complejo de hormona-receptor desde unión a DNA, lo que termina la acción de las hormonas. En la deficiencia de vitamina B_6 hay aumento de la sensibilidad a las acciones de cifras bajas de estrógenos, andrógenos, cortisol y vitamina D.

La deficiencia de vitamina B_6 es rara

Aunque la enfermedad clínica por deficiencia es rara, hay evidencia de que una proporción importante de la población tiene un estado marginal de la vitamina B_6. La deficiencia moderada causa anorma-

Piridoxina — Cinasa / Fosfatasa — Fosfato de piridoxina

Oxidasa

Piridoxal — Cinasa / Fosfatasa — Fosfato de piridoxal

Aminotransferasas — Oxidasa

Piridoxamina — Cinasa / Fosfatasa — Fosfato de piridoxamina

FIGURA 44-12 Interconversión de vitámeros de la vitamina B_6.

lidades del metabolismo del triptófano y la metionina. La sensibilidad incrementada a la acción de hormona esteroide puede ser importante en la aparición de **cáncer dependiente de hormona** de la mama, el útero y la próstata, y el estado en cuanto a vitamina B_6 y puede afectar el pronóstico.

El estado en cuanto a vitamina B_6 se evalúa por medio de evaluación de las transaminasas de eritrocito

El método que se usa más ampliamente para evaluar el estado en cuanto a vitamina B_6 es mediante la activación de transaminasas de eritrocito por medio de fosfato de piridoxal añadido *in vitro*, lo que se expresa como el coeficiente de activación.

El exceso de vitamina B_6 suscita neuropatía sensitiva

Se ha informado neuropatía sensitiva en individuos que han tomado 2 a 7 g de piridoxina al día por diversas razones (hay alguna evidencia leve de que es eficaz para tratar **síndrome premenstrual**). Hubo cierto daño residual después de eliminación de estas dosis altas; otros informes sugieren que las ingestiones de más de 200 mg/día muestran vínculo con daño neurológico.

LA VITAMINA B_{12} SÓLO SE ENCUENTRA EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

El término "vitamina B_{12}" se usa como un término descriptivo genérico para las **cobalaminas**, los **corrinoides** (compuestos que contienen cobalto y que poseen el anillo corrina) que tienen la actividad biológica de la vitamina (fig. 44-13). Algunos corrinoides que son factores de crecimiento para microorganismos no sólo carecen de actividad de vitamina B_{12}, sino que también pueden ser antimetabolitos de la vitamina. Aun cuando se sintetiza de modo exclusivo por microorganismos, para propósitos prácticos la vitamina B_{12} sólo se encuentra en alimentos de origen animal; no hay fuentes vegetales de esta vitamina. Esto significa que los vegetarianos estrictos (veganistas) tienen riesgo de presentar deficiencia de vitamina B_{12}. Las pequeñas cantidades de vitamina formadas por las bacterias sobre la superficie de frutas pueden ser adecuadas para satisfacer los requerimientos, pero se dispone de preparaciones de vitamina B_{12} fabricadas mediante fermentación bacteriana.

FIGURA 44-13 Vitamina B_{12}. Cuatro sitios de coordinación en el átomo de cobalto central son quelados por los átomos de nitrógeno del anillo corrina, y uno por el nitrógeno del nucleótido dimetilbenzimidazol. El sexto sitio de coordinación puede estar ocupado por: CN^- (cianocobalamina), OH^- (hidroxocobalamina), H_2O (acuocobalamina), $—CH_3$ (metil cobalamina) o 5'-desoxiadenosina (adenosilcobalamina).

La absorción de vitamina B_{12} necesita dos proteínas de unión

La vitamina B_{12} se absorbe unida a **factor intrínseco**, una pequeña glucoproteína secretada por las células parietales de la mucosa gástrica. El ácido gástrico y la pepsina liberan la vitamina desde unión a proteína en los alimentos, y hacen que esté disponible para unirse a la **cobalofilina**, una proteína de unión secretada en la saliva. En el duodeno, la cobalofilina se hidroliza, lo que libera la vitamina para unión a factor intrínseco. Por ende, la **insuficiencia pancreática** puede ser un factor en la aparición de deficiencia de vitamina B_{12}, lo que produce la excreción de vitamina B_{12} unida a cobalofilina. El factor intrínseco sólo se une a los vitámeros de vitamina B_{12} activos, y no a otros corrinoides. La vitamina B_{12} se absorbe a partir del tercio distal del íleon por medio de receptores que se unen al complejo de vitamina B_{12}-factor intrínseco, pero no al factor intrínseco libre ni a la vitamina libre.

Hay tres enzimas dependientes de vitamina B_{12}

La **metilmalonil CoA mutasa**, **leucina aminomutasa** y **metionina sintasa** (fig. 44-14) son enzimas dependientes de la vitamina B_{12}. La metilmalonil CoA se forma como un intermediario en el catabolismo de la valina y mediante la carboxilación de propionil CoA que surge en el catabolismo de la isoleucina, el colesterol y, rara vez, ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono o de manera directa a partir del propionato, un producto importante de la

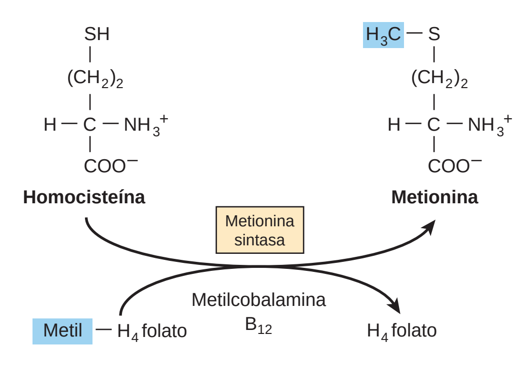


FIGURA 44-14 Homocisteína y la "trampa de folato". La deficiencia de vitamina B_{12} conduce a deterioro de la metionina sintasa, lo que produce acumulación de homocisteína y atrapamiento de folato como metiltetrahidrofolato.

fermentación microbiana en el rumen. Pasa por un reordenamiento (dependiente de vitamina B_{12}) hacia succinil CoA, catalizado por la metilmalonil CoA mutasa (fig. 20-2). La actividad de esta enzima se encuentra muy reducida en la deficiencia de vitamina B_{12}, lo que da pie a una acumulación de metilmalonil CoA y excreción urinaria de ácido metilmalónico, que proporciona un medio de evaluar el estado nutricional en cuanto a vitamina B_{12}.

La deficiencia de vitamina B_{12} ocasiona anemia perniciosa

La anemia perniciosa surge cuando la deficiencia de vitamina B_{12} altera el metabolismo del ácido fólico, lo que lleva a deficiencia de folato funcional que altera la eritropoyesis, y hace que se liberen precursores inmaduros de eritrocitos hacia la circulación (anemia megaloblástica). La causa más frecuente de la anemia perniciosa es el fracaso de la absorción de vitamina B_{12} más que deficiencia en la dieta. Esto puede ser el resultado del fracaso de la secreción de factor intrínseco causada por enfermedad autoinmunitaria que afecta las células parietales, o por producción de anticuerpos antifactor intrínseco. En la anemia perniciosa hay degeneración irreversible de la médula espinal como resultado de fracaso de la metilación de un residuo arginina sobre la proteína básica de mielina. Esto es el resultado de deficiencia de metionina en el sistema nervioso central, más que de deficiencia de folato secundaria.

HAY MÚLTIPLES FORMAS DE FOLATO EN LA DIETA

La forma activa del ácido fólico (pteroil glutamato) es el tetrahidrofolato (fig. 44-15). Los folatos en los alimentos pueden tener hasta siete residuos glutamato adicionales enlazados por medio de enlaces γ-peptídicos. Además, todos los folatos con sustitución de un carbono en la figura 44-15 también pueden estar presentes en los alimentos. El grado al cual las diferentes formas de folato pueden absorberse es variable, y las ingestiones de folato se calculan como equivalentes de folato en la dieta —la suma de microgramos de folatos en los alimentos + 1.7 × microgramos de ácido fólico (usado en el enriquecimiento de alimento).

El tetrahidrofolato es un acarreador de unidades de un carbono

El tetrahidrofolato puede acarrear fragmentos de un carbono fijos a *N*-5 (grupos formilo, formimino o metilo), *N*-10 (formilo) o formación de puente *N*-5-*N*-10 (grupo metileno o metenil). El 5-formil-tetrahidrofolato es más estable que el folato, y, por consiguiente, es objeto de uso farmacéutico (conocido como **ácido folínico**), y el compuesto sintético (racémico) **(leucovorín)**. El principal punto de entrada para fragmentos de un carbono hacia folatos sustituidos es el metileno-tetrahidrofolato (fig. 44-16), que se forma por medio de la reacción de glicina, serina y colina con tetrahidrofolato. La serina es la fuente de mayor importancia de folatos sustituidos para reacciones gliosintéticas, y la actividad de la serina hidroximetiltransferasa está regulada por el estado de sustitución de folato y la disponibilidad de este último. La reacción es reversible, y en el hígado puede formar serina a partir de glicina como un sustrato para la gluconeogénesis.

Tetrahidrofolato (THF)

5-Formil THF

10-Formil THF

5-Formimino THF

5,10-Metileno THF

5-Metil THF

5,10-Metenil THF

FIGURA 44-15 Ácido tetrahidrofólico y los folatos sustituidos de un carbono.

Los metileno-, metenil- y 10-formil-tetrahidrofolatos son interconvertibles. Cuando no se requieren folatos de un carbono, la oxidación de formil-tetrahidrofolato para dar dióxido de carbono proporciona un medio para mantener un fondo común de folato libre.

Los inhibidores del metabolismo de folato proporcionan fármacos para quimioterapia de cáncer, antibacterianos y antipalúdicos

La metilación de desoxiuridina monofosfato (dUMP) hacia timidina monofosfato (TMP), catalizada por timidilato sintasa, es esencial para la síntesis de DNA. El fragmento de un carbono del metileno-tetrahidrofolato se reduce hacia un grupo metilo, con liberación de dihidrofolato, que a continuación es reducido de regreso a tetrahidrofolato por la **dihidrofolato reductasa**. La timidilato sintasa y la dihidrofolato reductasa son en especial activas en tejidos que tienen un índice alto de división celular. El **metotrexato**, un análogo del 10-metil-tetrahidrofolato, inhibe la dihidrofolato reductasa, y se ha explotado como un medicamento anticáncer. Las dihidrofolato reductasas de algunas bacterias y parásitos difieren de la enzima del ser humano; los inhibidores de estas enzimas pueden emplearse como antibacterianos (p. ej., **trimetoprim**) y antipalúdicos (p.ej., **pirimetamina**).

La deficiencia de vitamina B_{12} da por resultado deficiencia de folato funcional: la "trampa de folato"

Cuando actúa como un donador de metilo, la *S*-adenosil metionina forma homocisteína, que puede ser remetilada por el metil-tetrahi-

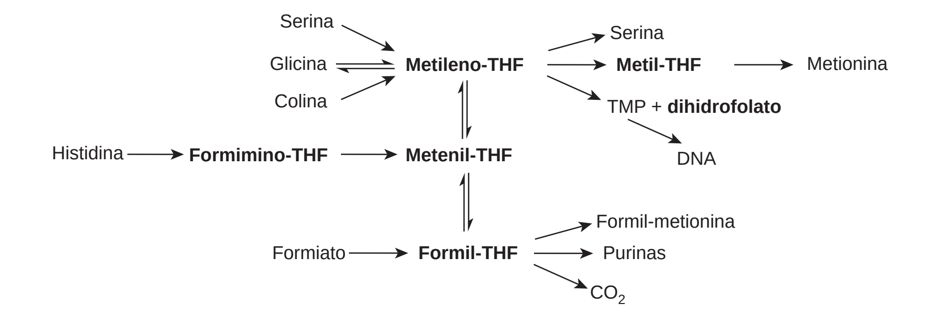


FIGURA 44-16 Fuentes y utilización de folatos sustituidos de un carbono.

drofolato, lo cual es catalizado por la metionina sintasa, una enzima dependiente de vitamina B_{12} (fig. 44-14). Puesto que la reducción de metileno-tetrahidrofolato hacia metil-tetrahidrofolato es irreversible y la principal fuente de tetrahidrofolato para los tejidos es el metil-tetrahidrofolato, la función de la metionina sintasa es vital, y proporciona un enlace entre las funciones del folato y la vitamina B_{12}. El deterioro de la metionina sintasa en la deficiencia de vitamina B_{12} origina la acumulación de metiltetrahidrofolato: la "trampa de folato". Por tanto, hay deficiencia funcional de folato, consecutiva a deficiencia de vitamina B_{12}.

La deficiencia de folato causa anemia megaloblástica

La deficiencia de ácido fólico en sí, o la deficiencia de vitamina B_{12}, que conduce a deficiencia de ácido fólico funcional, afecta a las células que se están dividiendo con rapidez porque tienen un requerimiento grande de timidina para la síntesis de DNA. En clínica, esto afecta a la médula ósea, lo que da pie a anemia megaloblástica.

Los complementos de ácido fólico disminuyen el riesgo de defectos del tubo neural y de hiperhomocisteinemia, y pueden aminorar la incidencia de enfermedad cardiovascular y algunos cánceres

Los complementos de 400 μg/día de folato iniciados antes de la concepción suscitan reducción importante de la incidencia de **espina bífida** y otros defectos del **tubo neural**. Debido a esto, en muchos países es obligatorio el enriquecimiento de la harina con ácido fólico. La homocisteína alta en sangre es un factor de riesgo importante para **aterosclerosis**, **trombosis** e **hipertensión**. El estado depende de alteración de la capacidad para formar metiltetrahidrofolato por medio de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, lo que produce deficiencia de folato funcional, y ocasiona fracaso para volver a metilar la homocisteína hacia metionina. Las personas que tienen una variante anormal de la metileno-tetrahidrofolato reductasa, que ocurre en 5 a 10% de la población, no presentan hiperhomocisteinemia si tienen una ingestión relativamente alta de folato, pero todavía se desconoce si esto afecta la incidencia de enfermedad cardiovascular.

Asimismo, hay evidencia de que el estado bajo de folato se traduce en metilación alterada de islas de CpG en el DNA, que es un factor en la aparición de cáncer colorrectal y otros cánceres. Varios estudios sugieren que los complementos de folato o el enriquecimiento de los alimentos con folato pueden disminuir el riesgo de aparición de algunos cánceres.

El enriquecimiento de alimentos con folato puede colocar a algunas personas en riesgo

Los complementos de folato rectificarán la anemia megaloblástica propia de la deficiencia de vitamina B_{12}, pero pueden acelerar la aparición del daño a nervios (irreversible) que se encuentra en la deficiencia de vitamina B_{12}. También hay antagonismo entre el ácido fólico y los anticonvulsivos usados en el tratamiento de epilepsia.

LA DEFICIENCIA DE BIOTINA EN LA DIETA SE DESCONOCE

En la figura 44-17 se muestran las estructuras de la biotina, biocitina y carboxibiotina (el intermediario metabólico activo). La biotina se encuentra ampliamente distribuida en muchos alimentos como biocitina (ε-amino-biotinilisina), que se libera en el momento de proteólisis. Es sintetizada por la flora intestinal en cantidades que exceden los requerimientos. La deficiencia se desconoce, excepto entre

FIGURA 44-17 Biotina, biocitina y carboxi-biocitina.

Ácido pantoténico

Coenzima (CoASH)

FIGURA 44-18 Ácido pantoténico y coenzima A. El * muestra el sitio de acilación por ácidos grasos.

personas mantenidas durante muchos meses en nutrición parenteral total, y en un número muy pequeño de personas que comen cantidades anormalmente grandes de clara de huevo cruda, que contiene avidina, una proteína que se une a la biotina y hace que no esté disponible para absorción.

La biotina es una coenzima de las enzimas carboxilasa

La biotina funciona para transferir dióxido de carbono en un pequeño número de reacciones: acetil-CoA carboxilasa (fig. 23-1), piruvato carboxilasa (fig. 20-1), propionil-CoA carboxilasa (fig. 20-2) y metilcrotonil-CoA carboxilasa. Una holocarboxilasa sintetasa cataliza la transferencia de biotina hacia un residuo lisina de la apoenzima para formar el residuo biocitina de la holoenzima. El intermediario reactivo es la 1-*N*-carboxi-biocitina, que se forma a partir de bicarbonato en una reacción dependiente de ATP. El grupo carboxilo a continuación se transfiere hacia el sustrato para carboxilación. Asimismo, la biotina participa en la regulación del ciclo celular; actúa para biotinilar proteínas nucleares clave.

COMO PARTE DE LA CoA Y DE LA PROTEÍNA ACARREADORA DE ACILO (ACP), EL ÁCIDO PANTOTÉNICO ACTÚA COMO ACARREADOR DE GRUPOS ACILO

El ácido pantoténico tiene una participación fundamental en el metabolismo del grupo acilo cuando actúa como la parte funcional panteteína de la coenzima A o de la ACP (fig. 44-18). La porción panteteína se forma luego de combinación de pantotenato con cisteína, que proporciona el grupo prostético-SH de la CoA y la ACP. La CoA participa en reacciones del ciclo del ácido cítrico (cap. 17), la oxidación de ácido graso (cap. 22), acetilaciones y síntesis de colesterol (cap. 26). La ACP participa en la síntesis de ácido graso (cap. 23). La vitamina se encuentra ampliamente distribuida en todos los productos alimenticios, y la deficiencia no se ha informado de modo inequívoco en seres humanos salvo en estudios de agotamiento específico.

EL ÁCIDO ASCÓRBICO ES UNA VITAMINA PARA SÓLO ALGUNAS ESPECIES

La **vitamina C** (fig. 44-19) es una vitamina para seres humanos y otros primates, los conejillos de Indias (cobayos), los murciélagos, las aves paseriformes y casi todos los peces invertebrados; otros animales la sintetizan como un intermediario en la vía del ácido urónico del metabolismo de la glucosa (fig. 21-4). En las especies para las cuales es una vitamina, hay un bloqueo de la vía como resultado de falta de la gulonolactona oxidasa. Tanto el ácido ascórbico como el ácido dehidroascórbico tienen actividad de vitamina.

La vitamina C es la coenzima para dos grupos de hidroxilasas

El ácido ascórbico tiene funciones específicas en las hidroxilasas que contienen cobre y las hidroxilasas que contienen hierro enlazadas a α-cetoglutarato. También aumenta la actividad de varias otras enzimas *in vitro*, si bien ésta no es una acción reductora inespecífica. Más aún, tiene varios efectos no enzimáticos como resultado de su acción como un agente reductor de radicales de oxígeno y que los desactiva (cap. 45).

La **dopamina β-hidroxilasa** es una enzima que contiene cobre, que participa en la síntesis de las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina), a partir de tirosina en la médula suprarrenal y el sistema nervioso central. Durante la hidroxilación el Cu^{+} se oxida hacia Cu^{2+}; la reducción de regreso hacia Cu^{+} necesita de manera específica ascorbato, que se oxida hacia monodehidroascorbato.

Ascorbato

Monodehidroascorbato (semidehidroascorbato)

Dehidroascorbato

FIGURA 44-19 Vitamina C.

Varias hormonas peptídicas tienen una amida carboxilo terminal que se deriva de un residuo glicina terminal. Esta glicina se hidroxila en el carbono α mediante una enzima que contiene cobre, la **peptidilglicina hidroxilasa**, que, de nuevo, requiere ascorbato para reducción de Cu^{2+}.

Varias hidroxilasas que contienen hierro, y que necesitan ascorbato, comparten un mecanismo de reacción común, en el cual la hidroxilación del sustrato está enlazada a la descarboxilación de α-cetoglutarato. Muchas de estas enzimas participan en la modificación de proteínas precursoras. Las **prolina** y **lisina hidroxilasas** se requieren para la modificación postsintética del **procolágeno** hacia **colágeno**, y la prolina hidroxilasa también se necesita en la formación de **osteocalcina** y el componente C1q del **complemento**. La aspartato β-hidroxilasa se requiere para la modificación postsintética del precursor de la proteína C, la proteasa dependiente de vitamina K que hidroliza el factor V activado en la cascada de coagulación de la sangre (cap. 50). La trimetil lisina y las γ-butirobetaína hidroxilasas se necesitan para la síntesis de carnitina.

La deficiencia de vitamina C da por resultado escorbuto

Los signos de deficiencia de vitamina C son cambios de la piel, fragilidad de los capilares sanguíneos, alteraciones de las encías, pérdida de dientes, y fractura de huesos, muchas de las cuales pueden atribuirse a síntesis deficiente de colágeno.

La ingestión más alta de vitamina C puede generar beneficios

A ingestiones por arriba de aproximadamente 100 mg/día, la capacidad del cuerpo para metabolizar vitamina C se satura, y cualquier ingestión adicional se excreta en la orina. Con todo, además de sus otras funciones, la vitamina C incrementa la absorción de hierro, y esto depende de la presencia de la vitamina en el intestino. En consecuencia, las ingestiones aumentadas pueden ser beneficiosas. Hay muy poca evidencia de que las dosis altas de vitamina C prevengan el resfriado común, aunque pueden reducir la duración y la intensidad de los síntomas.

SE REQUIEREN MINERALES PARA FUNCIONES TANTO FISIOLÓGICAS COMO BIOQUÍMICAS

Muchos de los minerales esenciales (cuadro 44-2) están ampliamente distribuidos en los alimentos, y la mayoría de las personas que come una dieta mixta tiene probabilidades de recibir ingestiones adecuadas. Las cantidades requeridas varían desde gramos por día para el sodio y el calcio, pasando por mg por día (p. ej., hierro, cinc), hasta microgramos por día para los oligoelementos. En general, las deficiencias de mineral suceden cuando los alimentos provienen de una región donde puede haber escasez de algunos minerales en el suelo (p. ej., yodo y selenio, de los cuales hay pocas cantidades en muchas áreas del mundo); cuando los alimentos provienen de diversas regiones, es menos probable que ocurra deficiencia de mineral. Aun así, la deficiencia de hierro es un problema general, porque si las pérdidas de dicho mineral desde el organismo son relativamente altas (p. ej., por pérdida copiosa de sangre menstrual), es difícil lograr una ingestión adecuada para remplazar las pérdidas. Los alimentos cultivados en suelo que contiene concentraciones altas de selenio originan toxicidad, y la ingestión excesiva de sodio causa hipertensión en personas susceptibles.

CUADRO 44-2 Clasificación de los minerales de acuerdo con su función

Función	Mineral
Función estructural	Calcio, magnesio, fosfato
Involucrados en la función de membrana	Sodio, potasio
Función como grupos prostéticos en enzimas	Cobalto, cobre, hierro, molibdeno, selenio, cinc
Función reguladora o función en la acción hormonal	Calcio, cromo, yodo, magnesio, manganeso, sodio, potasio
Se sabe que son esenciales, pero se desconoce su función	Silicio, vanadio, níquel, estaño
Tienen efectos en el organismo, pero en esencia no se encuentran establecidos	Fluoruro, litio
Pueden hallarse en alimentos, y se sabe que en cantidades excesivas es tóxico	Aluminio, arsénico, antimonio, boro, bromo, cadmio, cesio, germanio, plomo, mercurio, plata, estroncio

RESUMEN

- Las vitaminas son nutrientes orgánicos con funciones metabólicas esenciales, que regularmente se necesitan en pequeñas cantidades en la dieta porque el cuerpo no puede sintetizarlas. Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) son moléculas hidrofóbicas cuya absorción y la evitación de de ciencia requiere absorción normal de grasa.
- La vitamina A (retinol), presente en la carne, y la provitamina (β-caroteno), que se encuentra en vegetales, forman retinaldehído, que se utiliza en la visión, y ácido retinoico, que actúa en el control de la expresión de gen.
- La vitamina D es una prohormona esteroide que da la hormona activa calcitriol, que regula el metabolismo del calcio y el fosfato; la de ciencia lleva a raquitismo y osteomalacia.
- La vitamina E (tocoferol) es el antioxidante de mayor importancia en el organismo; actúa en la fase líquida y de membranas protegiendo contra los efectos de radicales libres.
- La vitamina K funciona como cofactor de una carboxilasa que actúa sobre residuos glutamato de proteínas precursoras de factores de la coagulación y proteínas óseas para permitirles quelar calcio.
- Las vitaminas hidrosolubles del complejo B actúan como cofactores de enzimas. La tiamina es un cofactor en la descarboxilación oxidativa de α-cetoácidos y de transcetolasa en la vía de la pentosa fosfato. La ribo avina y niacina son cofactores importantes en reacciones de oxidorreducción, presentes en enzimas avoproteína y en el NAD y NADP, respectivamente.
- El ácido pantoténico está presente en la coenzima A y en la proteína acarreadora de acilo, que actúan como acarreadores para grupos acilo en reacciones metabólicas.

- La vitamina B_6 como fosfato de piridoxal es la coenzima para varias enzimas del metabolismo de aminoácidos, entre ellas las transaminasas, y de la glucógeno fosforilasa. La biotina es la coenzima para varias enzimas carboxilasa.
- La vitamina B_{12} y el folato proporcionan residuos de un carbono para la síntesis de DNA y otras reacciones; la de ciencia suscita anemia megaloblástica.
- La vitamina C es un antioxidante hidrosoluble que mantiene en el estado reducido a la vitamina E y muchos cofactores metal.
- Los elementos minerales inorgánicos que tienen una función en el cuerpo deben encontrarse en la dieta. Cuando la ingestión es insu ciente, puede aparecer de ciencia, y las ingestiones excesivas pueden ser tóxicas.

REFERENCIAS

Bender DA, Bender AE: *Nutrition: A Reference Handbook*. Oxford University Press, 1997.

Bender DA: *Nutritional Biochemistry of the Vitamins*, 2nd edition. Cambridge University Press, 2003.

Department of Health: *Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom*. Her Majesty's Stationery Office, 1991.

FAO/WHO: *Human Vitamin and Mineral Requirements: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation: Bankok, Thailand*. Food and Nutrition Division of the United Nations Food and Agriculture Organization, 2000.

Geissler C, Powers HJ: *Human Nutrition*, 11th edition. Elsevier, 2005.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride*. National Academy Press, 1997.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin* B_{12}*, Pantothenic Acid, Biotin and Choline*. National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Values for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. National Academy Press, 2000.

Institute of Medicine: *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc*. National Academy Press, 2001.

Scientific Advisory Committee on Nutrition of the Food Standards Agency: *Folate and Disease Prevention*. The Stationery Office, 2006.

CAPÍTULO

45

Radicales libres y nutrientes antioxidantes

David A. Bender, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los radicales libres se forman en el organismo en condiciones normales. Dan por resultado daño de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas. Esto puede originar **cáncer**, **aterosclerosis** y **enfermedad de arteria coronaria**, y **enfermedades autoinmunitarias**. En estudios epidemiológicos y de laboratorio se han identificado varios **nutrientes antioxidantes** protectores: selenio, vitaminas C y E, β-caroteno, y varios compuestos polifenólicos derivados de alimentos de origen vegetal. Muchas personas toman complementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, estudios de intervención muestran poco beneficio de los complementos de antioxidantes excepto entre personas que al principio tenían deficiencia, y muchos estudios sobre el β-caroteno y la vitamina E han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes recibieron los complementos.

Las reacciones de radicales libres son reacciones en cadena que se perpetúan por sí mismas

Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado; sólo persisten durante un tiempo muy breve (del orden de $10^{-9} - 10^{-12}$ s) antes de colisionar con otra molécula y sustraer o donar un electrón para alcanzar estabilidad. Al hacerlo, generan un nuevo radical a partir de la molécula con la cual colisionaron. El único modo en el cual se puede desactivar un radical libre, y así poner fin a esta reacción en cadena, es si dos radicales reaccionan juntos, cuando los electrones no pareados pueden formar par en una u otra de las moléculas originales. Este suceso es raro, debido a la vida media muy breve de un radical individual y las concentraciones muy bajas de radicales en los tejidos.

Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido, $^{\bullet}O_2^-$, hidroxilo, $^{\bullet}OH$, y perhidroxilo, $^{\bullet}O_2H$. El daño de tejido causado por radicales de oxígeno suele llamarse daño oxidativo, y los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes.

Los radicales pueden dañar DNA, lípidos y proteínas

La interacción de radicales con bases en el DNA puede llevar a cambios químicos que, si no se reparan (cap. 35), pueden heredarse en las células hijas. El daño por radical de ácidos grasos insaturados en membranas celulares y proteínas plasmáticas conduce a la formación de peróxidos de lípidos, y después a dialdehídos muy reactivos que pueden modificar químicamente proteínas y bases de ácidos nucleicos. Las proteínas también están sujetas a modificación química directa por interacción con radicales. El daño oxidativo de residuos tirosina en proteínas puede llevar a la formación de dihidroxifenilalanina que puede pasar por reacciones no enzimáticas que dan pie a formación adicional de radicales de oxígeno.

La carga corporal total de radical puede estimarse al medir los productos de la peroxidación de lípidos. Los peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de la oxidación ferrosa en valoración con naranja de xilenol (FOX). En condiciones ácidas, oxidan Fe^{2+} hacia Fe^{3+}, que forma un cromóforo con el naranja de xilenol. Los dialdehídos formados a partir de peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de reacción con ácido tiobarbitúrico, cuando forman un aducto fluorescente de color rojo; los resultados de esta reacción por lo general se reportan como sustancias reactivas a ácido barbitúrico totales (TBARS). La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados n-6 lleva a la formación de pentano, y la de ácidos grasos poliinsaturados n-3 a la formación de etano; ambos pueden medirse en el aire espirado.

El daño por radicales puede suscitar mutaciones, cáncer, enfermedad autoinmunitaria y aterosclerosis

El daño del DNA por radical en células de la línea germinal en los ovarios y los testículos puede llevar a mutaciones hereditarias; en las células somáticas el resultado puede ser el inicio de cáncer. Los dialdehídos que se forman como resultado de peroxidación de lípidos inducida por radical en membranas celulares también pueden modificar bases en el DNA.

La modificación química de aminoácidos en proteínas, sea por acción directa de radical o como resultado de reacción con los productos de peroxidación de lípidos inducida por radical, conduce a proteínas que el sistema inmunitario reconoce como extrañas. Los anticuerpos resultantes también tendrán reacción cruzada con proteínas hísticas normales, de manera que se inicia enfermedad autoinmunitaria.

La modificación química de las proteínas o los lípidos en lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática da pie a LDL anormal que no es reconocida por los receptores de LDL del hígado y, así, no se depura en dicho órgano. La LDL modificada es captada por los receptores recolectores de los macrófagos. Los macrófagos ingurgitados con lípido se infiltran bajo el endotelio de los vasos sanguí-

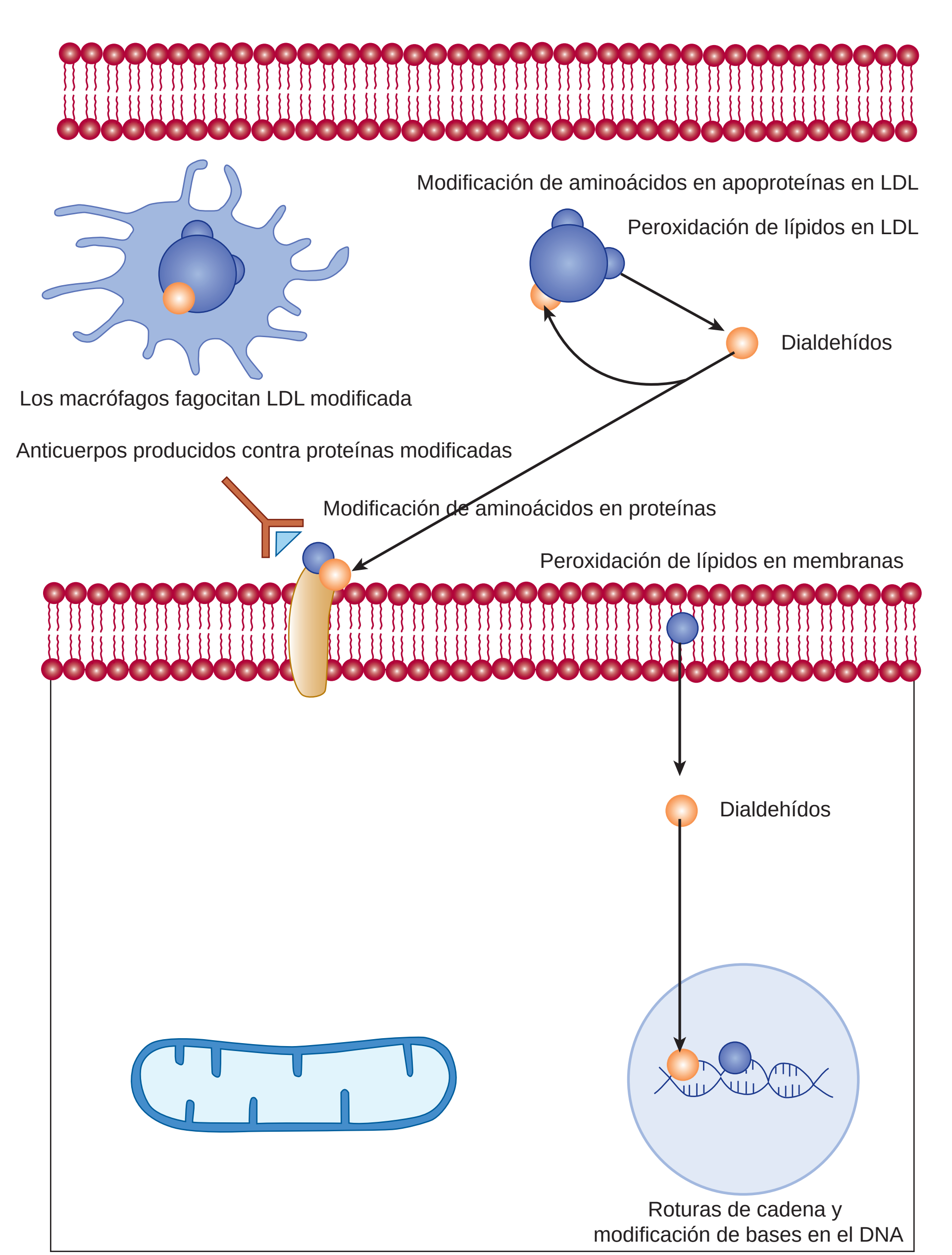


FIGURA 45-1 Daño de tejido por radicales.

neos (en particular cuando ya hay cierto daño del endotelio), y son muertos por el alto contenido de colesterol no esterificado que han acumulado. Esto ocurre en la aparición de placas ateroscleróticas que, en casos extremos, pueden ocluir de modo más o menos completo un vaso sanguíneo.

Hay múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo

Las radiaciones ionizantes (rayos X y UV) pueden lisar el agua, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo. Los iones metálicos de transición, entre ellos Cu^+, Co^{2+}, Ni^{2+} y Fe^{2+}, pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, lo que de nuevo conduce a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (el factor de relajación derivado del endotelio) en sí es un radical y, lo que es más importante, puede reaccionar con el superóxido para dar peroxinitrito, que se desintegra para formar radicales hidroxilo.

La explosión respiratoria de macrófagos activados (cap. 52) es la utilización incrementada de glucosa por medio de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) para reducir NADP+ a NADPH, y utilización aumentada de oxígeno para oxidar NADPH para producir radicales de oxígeno (y halógeno) como agentes citotóxicos para matar microorganismos fagocitados. La oxidasa de la explosión respiratoria (NADPH oxidasa) es una flavoproteína que reduce el oxígeno hacia superóxido: $NADPH + 2O_2 \rightarrow NADP^+ + 2O_2^{\bar{\cdot}} + 2H^+$. Los marcadores plasmáticos de daño de lípidos por radical se incrementan de modo considerable en respuesta a incluso una infección leve.

La oxidación de coenzimas flavina reducidas en las cadenas de transporte de electrones mitocondrial (cap. 13) y microsómica procede por una serie de pasos en los cuales el radical flavina semi-

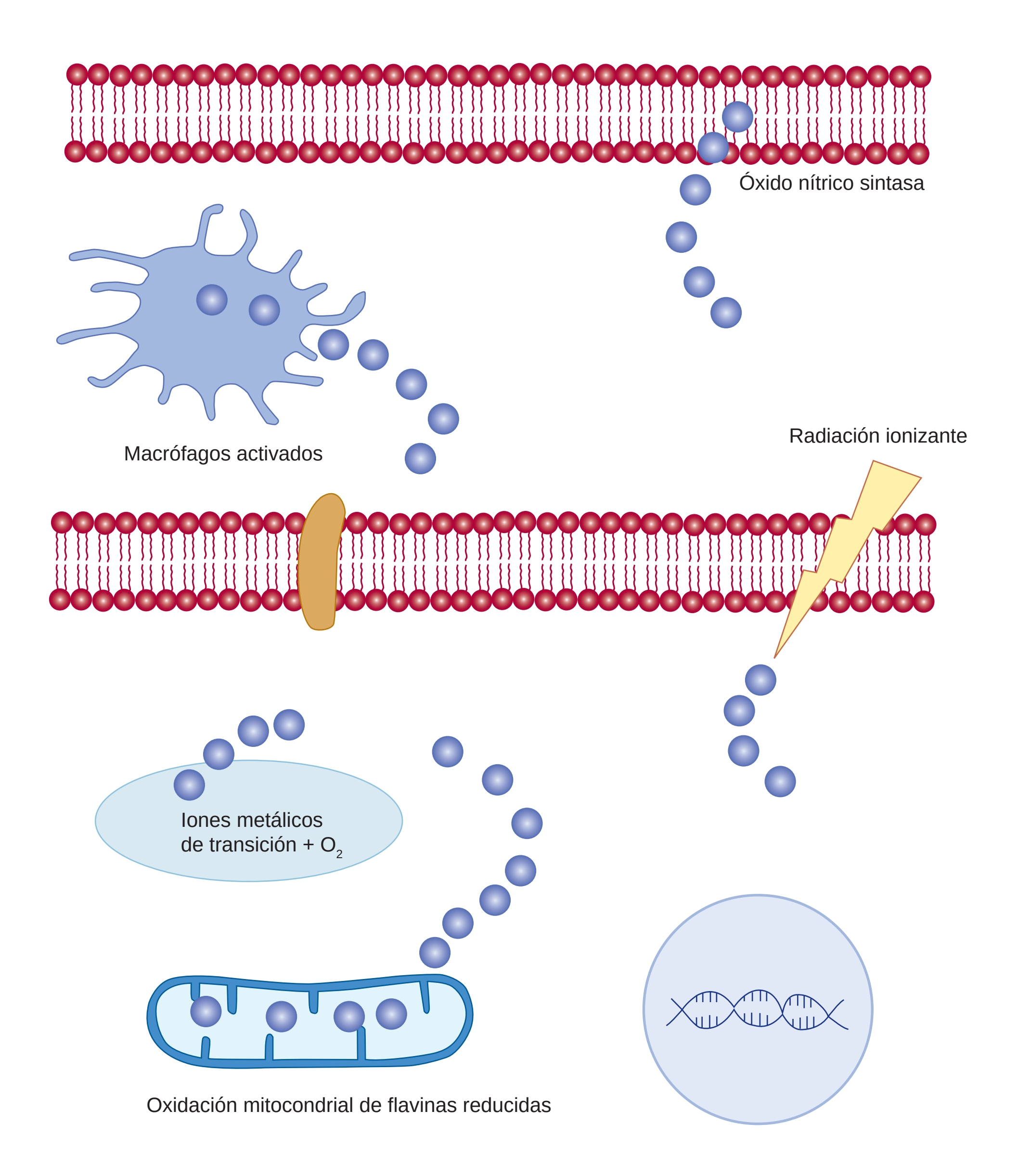


FIGURA 45-2 Fuentes de radicales.

quinona es estabilizado por la proteína a la cual está unido, y forma radicales de oxígeno como intermediarios transitorios. Aunque los productos finales no son radicales, debido a la naturaleza impredecible de los radicales hay considerable "escape" de éstos, y alrededor de 3 a 5% del consumo diario de 30 mol de oxígeno por un ser humano adulto se convierte en oxígeno singleto, peróxido de hidrógeno, y radicales superóxido, perhidroxilo e hidroxilo, en lugar de pasar por reducción completa hacia agua. Esto da por resultado la producción diaria de aproximadamente 1.5 mol de especies de oxígeno reactivas.

Hay varios mecanismos de protección contra daño por radical

Los iones metálicos que pasan por reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno normalmente no se encuentran libres en solución, sino que están unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético, o a proteínas de transporte y almacenamiento específicas, de manera que son no reactivos. El hierro está unido a la transferrina, ferritina y hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a metalotioneína. Esta unión a proteínas de transporte que son demasiado grandes como para que se filtren en los riñones también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de modo accidental, y también como especies de oxígeno reactivas requeridas para diversas reacciones catalizadas por enzima. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre superóxido y agua para dar oxígeno y peróxido de hidrógeno: $O_2^{\cdot-} + H_2O \rightarrow O_2 + H_2O_2$. El peróxido de hidrógeno a continuación es eliminado por la catalasa y por diversas peroxidasas: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. Casi todas las enzimas que producen y requieren superóxido están en los peroxisomas, junto con las superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasas.

Los peróxidos que se forman por daño por radical de lipoides en membranas y lipoproteínas plasmáticas son reducidos hacia ácidos grasos por la glutatión peroxidasa, una enzima dependiente de selenio (de ahí la importancia de la ingestión adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante), y el glutatión oxidado es

reducido por la glutatión reductasa dependiente de NADPH (fig. 21-3). Los peróxidos de lípidos también se reducen hacia ácidos grasos mediante reacción con vitamina E, lo que forma el radical tocoferoxilo relativamente estable, que persiste suficiente tiempo como para pasar por reducción de regreso hacia tocoferol por medio de reacción con vitamina C en la superficie de la célula o la lipoproteína (fig. 44-6). El radical monodehidroascorbato resultante luego pasa por reducción enzimática de regreso hacia ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodehidroascorbato para dar 1 mol, cada uno, de ascorbato y dehidroascorbato.

El ascorbato, el ácido úrico y diversos polifenoles derivados de alimentos de origen vegetal actúan como antioxidantes hidrosolubles que atrapan radical, lo que forma radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por reacción hacia productos no radicales. De manera similar, la ubiquinona y los carotenos actúan como antioxidantes liposolubles que atrapan radical en membranas y lipoproteínas plasmáticas.

Los antioxidantes también pueden ser prooxidantes

Si bien el ascorbato es un antioxidante que reacciona con superóxido e hidroxilo para dar monodehidroascorbato y peróxido de hidrógeno o agua, también puede ser una fuente de radicales superóxido mediante reacción con oxígeno, y de radicales hidroxilo por medio de reacción con iones de Cu^{2+} (cuadro 45-1). Empero, estas acciones prooxidantes necesitan cifras relativamente altas de ascorbato que es poco probable que se alcancen en los tejidos, porque una vez que la concentración plasmática de ascorbato alcanza alrededor de 30 mmol/L, se llega al umbral renal, y a ingestiones por arriba de aproximadamente 100 a 120 mg/día la vitamina se excreta en la orina de modo cuantitativo con la ingestión.

Una cantidad considerable de evidencia epidemiológica sugiere que el caroteno protege contra cánceres pulmonar y de otros tipos. Con todo, dos estudios de intervención importantes en el decenio de 1990-1999 mostraron un aumento de las muertes por cáncer pulmonar (y de otros tipos) entre personas que recibieron complementos de β-caroteno. El problema es que si bien el β-caroteno en realidad es un antioxidante que atrapa radicales en condiciones de presión parcial baja de oxígeno, como en casi todos los tejidos, a presiones parciales altas de oxígeno (como en los pulmones) y especialmente en concentraciones altas, el β-caroteno es un prooxidante autocatalítico y, en consecuencia, puede iniciar daño de lípidos y proteínas por radicales.

Evidencia epidemiológica también sugiere que la vitamina E es protectora contra aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Aun así, metaanálisis de estudios de intervención con vitamina E muestran incremento de la mortalidad entre quienes toman complementos (en dosis altas). En todos estos estudios se ha usado α-tocoferol, y es posible que los otros vitámeros de la vitamina E que están presentes en los alimentos, no así en los complementos, tengan importancia. *In vitro,* las proteínas plasmáticas forman menos hidroperóxido de éster de colesterol cuando se incuban con fuentes de concentraciones bajas de radicales perhidroxilo cuando la vitamina C se ha eliminado que cuando está presente. El problema parece ser que la vitamina E actúa como un antioxidante al formar un radical estable que persiste lo suficiente como para pasar por metabolismo hacia productos no radicales. Esto significa que el radical también persiste suficiente tiempo como para penetrar a mayor profundidad en la lipoproteína, lo que da por resultado más daño por radical, en lugar de interactuar con un antioxidante hidrosoluble en la superficie de la lipoproteína.

CUADRO 45-1 Funciones antioxidantes y prooxidantes de la vitamina C

Funciones antioxidantes:
Ascorbato + $^{\bullet}O_2^-$ → H_2O_2 + monodehidroascorbato; la catalasa y las peroxidasas catalizan la reacción: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Ascorbato + $^{\bullet}OH$ → H_2O + monodehidroascorbato
Funciones prooxidantes:
Ascorbato + O_2 → $^{\bullet}O_2^-$ + monodehidroascorbato
Ascorbato + Cu^{2+} → Cu^+ + monodehidroascorbato
$Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + OH^- + {}^{\bullet}OH$

RESUMEN

- Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no pareado. Pueden reaccionar con, además de modi car, proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas.
- El daño por radical de lípidos y proteínas en lipoproteínas plasmáticas es un factor en la aparición de aterosclerosis y arteriopatía coronaria; el daño por radical de ácidos nucleicos puede inducir mutaciones hereditarias y cáncer; el daño por radical de proteínas puede llevar a enfermedades autoinmunitarias.
- Los radicales de oxígeno se forman como resultado de exposición a radiación ionizante, reacciones no enzimáticas de iones metálicos de transición, la explosión respiratoria de macrófagos activados, y la oxidación normal de coenzimas avina reducidas.
- La protección contra daño por radicales es proporcionada por enzimas que eliminan iones superóxido y peróxido de hidrógeno, reducción enzimática de peróxidos de lípidos enlazados a oxidación de glutatión, reacción no enzimática de peróxidos de lípidos con vitamina E, y reacción de radicales con compuestos como vitaminas C y E, caroteno, ubiquinona, ácido úrico, y polifenoles de la dieta que forman radicales relativamente estables que persisten su ciente tiempo como para pasar por una reacción hacia productos no radicales.
- Salvo en personas que al principio tuvieron de ciencia, los estudios de intervención sobre vitamina E y β-caroteno en general han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes toman los complementos. El β-caroteno sólo es un antioxidante a cifras bajas de oxígeno; a concentraciones más altas de oxígeno es un prooxidante autocatalítico. La vitamina E forma un radical estable que tiene la capacidad de reaccionar con antioxidantes hidrosolubles o de penetrar más hacia lipoproteínas y tejidos, de manera que incrementa el daño por radicales.

REFERENCIAS

Asplund K: Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. J Intern Med 2002;251:372.

Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C: Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. JAMA 2007;297:842.

Burton G, Ingold K: β-Carotene, an unusual type of lipid antioxidant. Science 1984;224:569.

Carr A, Frei B: Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J 1999;13:1007.

Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE: Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? J Lab Clin Med 1992;119:598.

Imlay JA: Pathways of oxidative damage. Ann Rev Microbiol 2003;57:395.

Imlay JA: Cellular Defenses against superoxide and hydrogen peroxide. Ann Rev Biochem 2008;77: (doi:10.1146/annurev.biochem.77.061606.161055).

Klaunig JE, Kamendulis LM: The role of oxidative stress in carcinogenesis. Ann Rev Pharm Tox 2004;44:239.

Miller ER, Pastor-Barriuso R, et al: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Ann Intern Med 2005;142:37.

Omenn GS, Goodman GE, et al: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996;334:1150.

Various authors: Symposium: Antioxidant vitamins and β-carotene in disease prevention. Amer J Clin Nutr 1995;62, suppl 6:12995–15405.

Various authors: Symposium Proceedings: Molecular Mechanisms of protective effects of vitamin E in atherosclerosis. J Nutr 2001;131:366–397.

C A P Í T U L O

46

Tráfico y distribución intracelulares de proteínas

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas deben viajar desde los polirribosomas, donde se sintetizan, hacia muchos sitios diferentes en la célula para desempeñar sus funciones particulares. Algunas están destinadas a ser componentes de organelos específicos, otras al citosol o a exportación, y aún otras estarán ubicadas en las diversas membranas celulares. Así, hay considerable **tráfico intracelular de proteínas**. Una información importante fue el reconocimiento por Blobel y otros de que, para que las proteínas alcancen sus ubicaciones apropiadas, por lo general contienen **información** (una señal o secuencia de codificación) que las **dirige** de modo apropiado. Una vez que se definieron varias de las señales (cuadro 46-1), quedó de manifiesto que **ciertas enfermedades** se producen por mutaciones que afectan estas señales. En este capítulo se comentan el tráfico intracelular de proteínas y su organización, y se consideran de manera breve algunos de los trastornos que sobrevienen cuando ocurren anormalidades.

MUCHAS PROTEÍNAS SON DIRIGIDAS POR SECUENCIAS DE SEÑAL HACIA SUS DESTINOS CORRECTOS

Las vías biosintéticas de proteína en las células pueden considerarse **un gran sistema de distribución grande**. Muchas proteínas portan **señales** (por lo regular secuencias de aminoácidos específicas) que las dirigen hacia su destino; de esta manera se asegura que terminarán en la membrana o el compartimiento celular apropiado; estas señales son un componente fundamental del sistema de distribución. Por lo general las secuencias de señal se reconocen e interactúan con áreas complementarias de otras proteínas que sirven como receptores para las que contienen las señales.

Una decisión importante de distribución es tomada en etapas tempranas en la biosíntesis de proteína, cuando se sintetizan proteínas específicas en **polirribosomas libres** o **unidos a membrana**. Esto da por resultado dos ramas de clasificación, denominadas la rama **citosólica** y la **rama del retículo endoplásmico rugoso (RER)** (fig. 46-1). Esta distribución sucede porque las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana contienen un **péptido señal** que media su fijación a la membrana del ER. Más adelante se proporcionan más detalles sobre el péptido señal. Las proteínas sintetizadas en **polirribosomas libres** carecen de ese péptido señal y se suministran hacia el citosol. Ahí se dirigen hacia las mitocondrias, el núcleo y los peroxisomas por medio de señales específicas, o permanecen en el citosol si carecen de una señal. Cualquier proteína que contiene una secuencia de dirección que después se elimina se llama una **preproteína**. En algunos casos también se elimina un segundo péptido, y en ese caso la proteína original se conoce como una **preproproteína** (p. ej., preproalbúmina; cap. 50).

Las proteínas que se sintetizan y clasifican en la **rama del ER rugoso** (fig. 46-1) incluyen muchas destinadas para diversas membranas (p. ej., del ER, aparato de Golgi, membrana plasmática [PM]) y para secreción. Las enzimas lisosómicas también están comprendidas. De este modo, estas diversas proteínas pueden residir en las membranas o en la luz del ER, o seguir la ruta de transporte importante de proteínas intracelulares hacia el GA. La vía completa de ER → GA → PM suele denominarse la **vía secretoria** o **exocítica**. Se dará atención especial a eventos a lo largo de esta ruta. Las proteínas destinadas para el GA, la PM, ciertos otros sitios, o para secreción, se portan en **vesículas de transporte** (fig. 46-2); más adelante se dará una breve descripción de la formación de estas partículas importantes. Ciertas otras proteínas destinadas para secreción se acarrean en **vesículas secretorias** (fig. 46-2). Éstas son prominentes en el páncreas y en ciertas otras glándulas. Su movilización y secreción están reguladas, y a menudo se llaman **"secreción regulada"**, mientras que la vía secretoria que incluye vesículas de transporte se denomina **"constitutiva"**. En el capítulo 47 se describe el paso de enzimas hacia los lisosomas usando la señal de la manosa 6-fosfato.

El aparato de Golgi participa en la glucosilación y clasificación de proteínas

El **aparato de Golgi** tiene dos funciones importantes en la síntesis de membrana. En primer lugar, participa en el **procesamiento de las cadenas de oligosacárido** de la membrana y otras glucoproteínas ligadas a N, y contiene también enzimas involucradas en la O-glucosilación (cap. 47). En segundo lugar, participa en la **distribución** de diversas proteínas antes de su aporte hacia sus destinos intracelulares apropiados. Todas las partes del GA participan en la primera función, mientras que la **red *trans*-Golgi** está involucrada particularmente en la segunda, y tiene contenido muy alto de vesículas.

CUADRO 46-1 Algunas secuencias o moléculas que dirigen proteínas hacia organelos específicos

Secuencia o compuesto de dirección	Organelo al cual se dirige
Secuencia de péptido señal	Membrana del ER
Secuencia KDEL amino terminal (Lis-Asp-Glu-Leu) en proteínas residentes en el ER en vesículas COPI	Superficie luminal del ER
Secuencias diacídicas (p. ej., Asp-X-Glu) en proteínas de membrana en vesículas COPII	Membranas de Golgi
Secuencia amino terminal (20 a 80 residuos)	Matriz mitocondrial
NLS (p. ej., Pro_2-Lis_3-Arg-Lis-Val)	Núcleo
PTS (p. ej., Ser-Lis-Leu)	Peroxisoma
Manosa 6-fosfato	Lisosoma

Abreviaturas: NLS, señal de localización nuclear; PTS, secuencia de dirección de matriz peroxisómica.

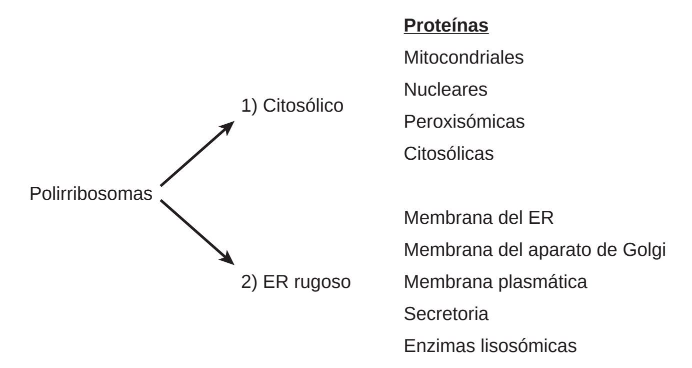


FIGURA 46-1 Representación esquemática de las dos ramas de clasificación de proteína que ocurre por medio de síntesis en polirribosomas 1) citosólicos y 2) unidos a membrana. Las proteínas mitocondriales listadas son codificadas por genes nucleares; en el cuadro 46-1 se lista una de las señales que se usan en la clasificación adicional de proteínas de matriz mitocondrial. (ER, retículo endoplásmico; GA, aparato de Golgi.)

Una amplia variedad de técnicas experimentales se ha usado para investigar el tráfico y la distribución

Los métodos que han proporcionado información importante sobre los procesos descritos en este capítulo son: 1) microscopia electrónica; 2) uso de mutantes de levadura; 3) fraccionamiento subcelular; 4) aplicación de técnicas de DNA recombinante (p. ej., mutación o eliminación de secuencias particulares en proteínas, o fusión de nuevas secuencias en ellas); 5) creación de sistemas *in vitro* (p. ej., para estudiar la translocación en el ER y mecanismos de formación de vesícula); 6) uso de marcas fluorescentes para seguir el movimiento de proteínas, y 7) estudios estructurales sobre ciertas proteínas, en particular mediante cristalografía con rayos X.

A continuación se describe la clasificación de proteínas que pertenecen a **la rama citosólica** a la cual se hizo referencia, empezando por las proteínas mitocondriales.

LA MITOCONDRIA IMPORTA PROTEÍNAS Y LAS SINTETIZA

Las **mitocondrias** contienen muchas proteínas. Trece polipéptidos (en su mayor parte componentes de membrana de la cadena de transporte de electrón) son codificados por el **genoma mitocondrial (mt)**, y se sintetizan en este organelo usando su propio sistema de síntesis de proteínas. Sin embargo, casi todos (al menos varios cientos) son codificados por **genes nucleares**, se sintetizan fuera de las mitocondrias en **polirribosomas** citosólicos, y se deben importar. Las **células de levadura** han resultado ser un sistema en especial útil para analizar los mecanismos de importación de proteínas mitocondriales, en parte porque ha resultado posible generar diversos **mutantes** que han aclarado los procesos fundamentales involucrados. Casi todo el progreso se ha hecho en el estudio de proteínas presentes en **la matriz mitocondrial**, como las subunidades F_1 de ATPasa. Aquí sólo se comentará con algún detalle la vía de importación de proteínas de matriz.

Las **proteínas de matriz** deben pasar desde polirribosomas citosólicos a través de las **membranas mitocondriales externa** e **interna** para llegar a su destino. El paso a través de las dos membranas se llama **translocación**. Tienen una secuencia líder amino terminal **(presecuencia)**, de alrededor de 20 a 50 aminoácidos de largo (cuadro 46-1), que no está muy conservada pero es amfipática y contiene muchos aminoácidos hidrofóbicos y con carga positiva (p. ej., Lis o Arg). La presecuencia es equivalente a un péptido señal que media la fijación de polirribosomas a membranas del ER (véase más adelante), pero en este caso **dirigiendo proteínas hacia la matriz**; si la secuencia líder se divide, las proteínas de matriz potenciales no alcanzarán su destino. En la figura 46-3 se muestran algunas características generales del paso de una proteína desde el citosol hacia la matriz mt.

La translocación ocurre de manera **postraduccional**, después de que las proteínas de matriz se liberan desde los polirribosomas citosólicos. Las interacciones con varias proteínas citosólicas que actúan como **chaperones** (véase más adelante) y como **factores de dirección** suceden antes de la translocación.

Dos **complejos de translocación** distintos están situados en las membranas mitocondriales externa e interna, lo que se denomina (respectivamente) TOM (translocasa de la membrana externa) y TIM (translocasa de la membrana interna). Se ha analizado cada complejo, y se ha encontrado que está compuesto de varias proteínas, algunas de las cuales actúan como **receptores (p. ej., Tom20/22)** para las proteínas que están llegando, y otros como **componentes (p. ej., Tom40) de los poros transmembrana** a través de los cuales deben pasar estas proteínas. Las proteínas deben hallarse en el **estado desdoblado** para pasar por los complejos, y esto se hace posible por medio de **la unión (dependiente de ATP) a varias proteínas chaperón**. Las funciones de las proteínas chaperón en el plegado de proteínas se comentan más adelante en este capítulo. En las mitocondrias, participan en la translocación, clasificación, plegado, montaje y degradación de proteínas importadas. La importación requiere una **fuerza motriz de protón** a través de la membrana interna; consta del **potencial eléctrico** a través de la membrana (negativo dentro) y el **gradiente de pH** (cap. 13). La secuencia líder con carga positiva puede recibir ayuda a través de la membrana mediante la carga negativa en la matriz. La presecuencia se divide en la matriz por medio de una **proteasa de procesamiento de matriz (MPP)**. El

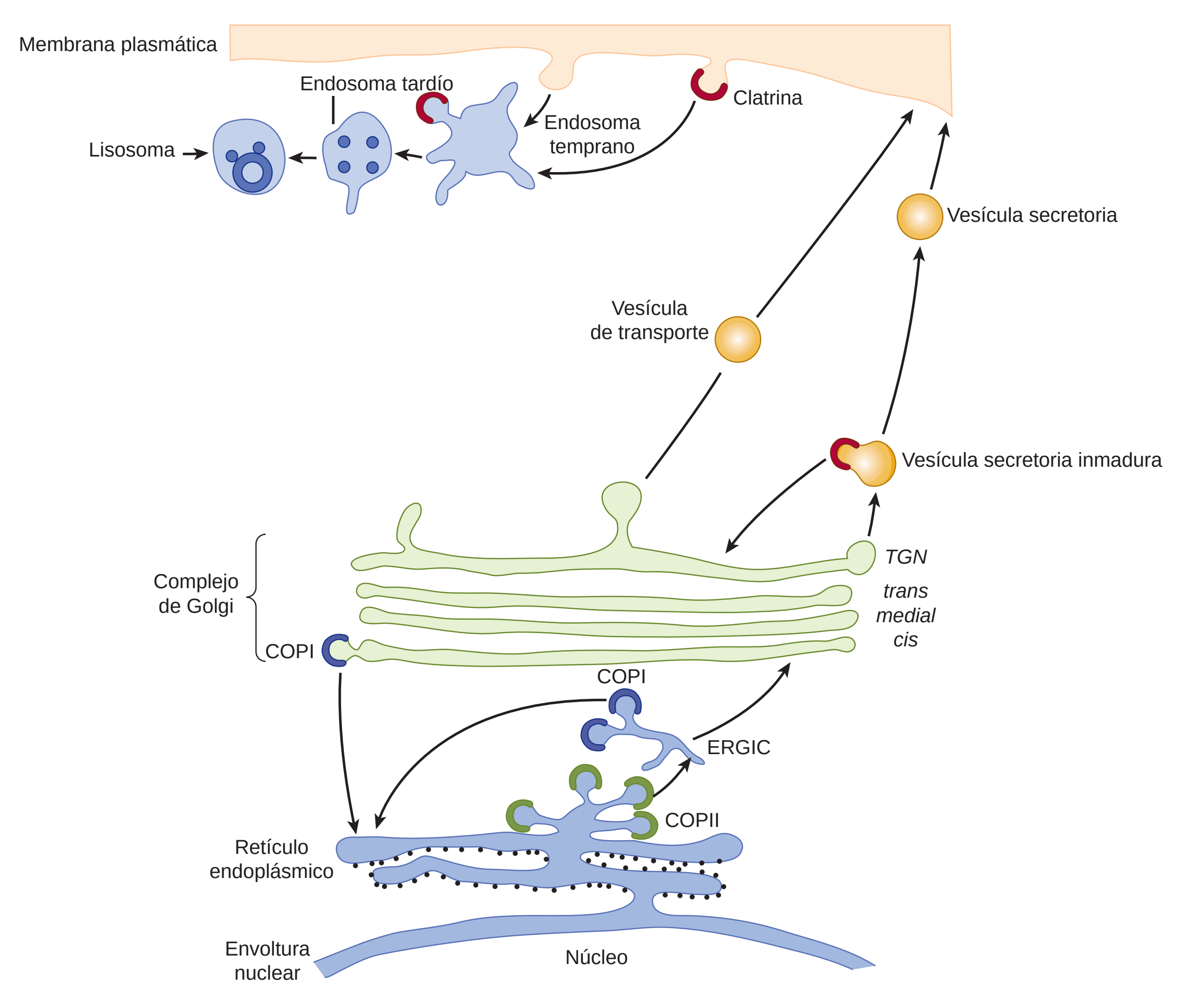


FIGURA 46-2 Representación esquemática de la rama de clasificación de proteína del ER rugoso. Las proteínas recién sintetizadas se insertan en la membrana o en la luz del ER desde polirribosomas unidos a membrana (pequeños círculos de color negro que tachonan la cara citosólica del ER). Las proteínas que se transportan hacia afuera del ER son acarreadas en vesículas COPII hacia el *cis*-Golgi (transporte anterógrado). Las proteínas parecen moverse a través del aparato de Golgi principalmente por medio de maduración de las cisternas. En la TGN, el lado de salida del aparato de Golgi, las proteínas se secretan y clasifican. Las proteínas secretorias se acumulan en vesículas secretorias (secreción regulada), desde las cuales se expulsan en la membrana plasmática. Las proteínas destinadas para la membrana plasmática o las que se secretan de una manera constitutiva se llevan hacia afuera de la superficie celular en vesículas de transporte que hasta ahora quedan por caracterizar (secreción constitutiva). Las vesículas cubiertas por clatrina participan en la endocitosis; acarrean carga hacia endosomas tardíos y hacia lisosomas. La manosa 6-fosfato (que no se muestra; cap. 47) actúa como una señal para transportar enzimas hacia lisosomas. Las vesículas COPI participan en la recuperación de proteínas desde el aparato de Golgi hacia el ER (transporte retrógrado), y quizá estén involucradas en algo de transporte intra-Golgi. El compartimiento ERGIC/VTR parece ser un sitio principalmente para concentrar carga destinada para el transporte retrógrado hacia vesículas COPI. (TGN, red *trans*-Golgi; ERGIC/VTR, complejo intermedio de ER-Golgi o agrupaciones de túbulo vesicular.) (Cortesía de E Degen.)

contacto con **otros chaperones** presentes en la matriz es esencial para completar el proceso de importación general. La interacción con mt-Hsp70 (mt = mitocondrial; Hsp = proteína de choque por calor; 70 = ~ 70 kDa) asegura importación apropiada hacia la matriz, y evita plegado inadecuado o agregación, mientras que la interacción con el sistema mt-Hsp60-Hsp10 asegura plegado apropiado. Las interacciones de proteínas importadas con los chaperones anteriores necesitan **hidrólisis de ATP** para impulsarlas.

No se han dilucidado por completo los detalles de cómo se translocan las preproteínas. Es posible que el potencial eléctrico relacionado con la membrana mitocondrial interna cause un cambio conformacional en la preproteína desdoblada que se está translocando, y que esto ayude a tirar de ella. Además, el hecho de que la matriz es más negativa que el espacio intermembrana puede "atraer" el amino terminal con carga positiva de la preproteína para que entre en la matriz. Para que ocurra translocación se requiere

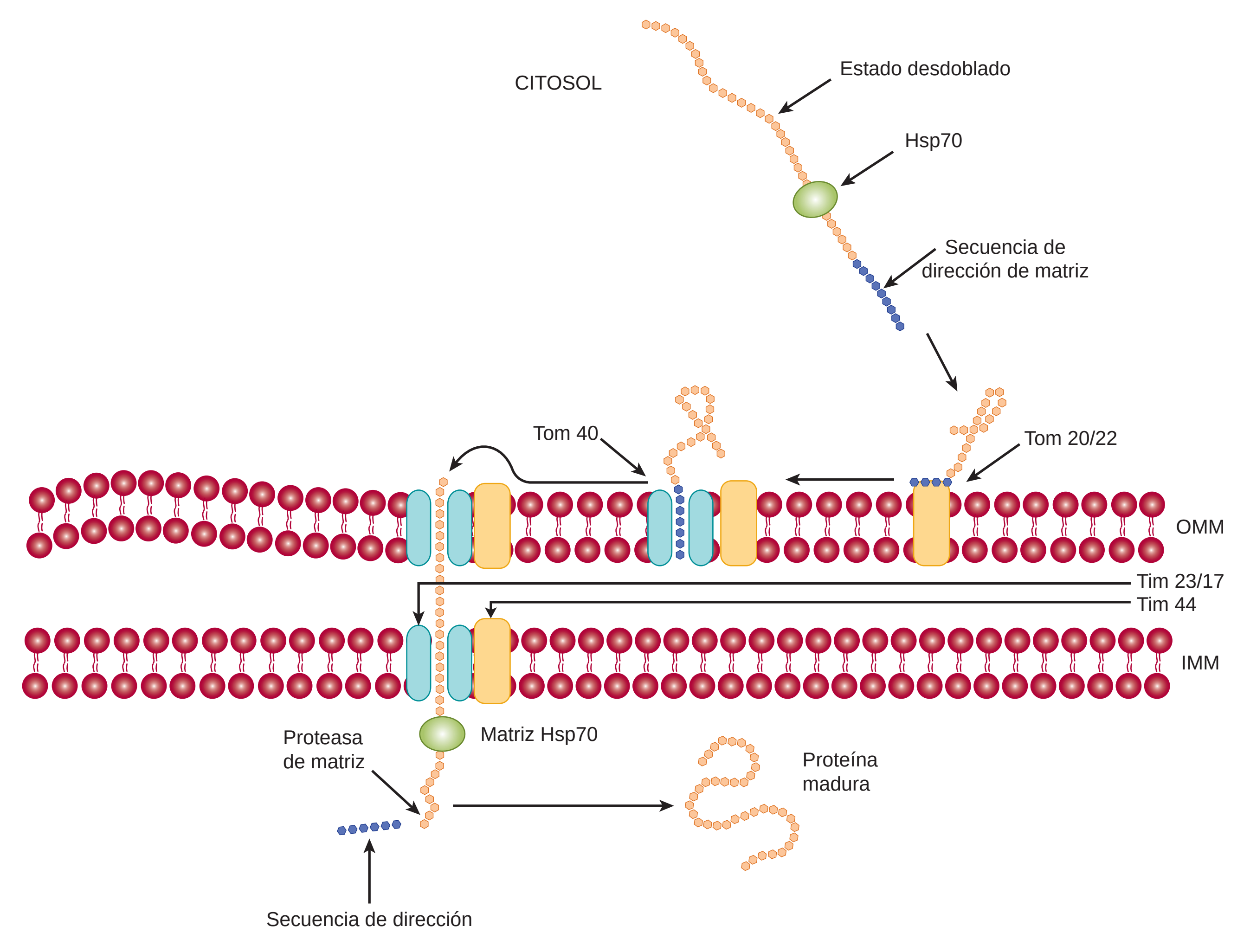


FIGURA 46-3 Representación esquemática de la entrada de una proteína hacia la matriz mitocondrial. La proteína desdoblada sintetizada en polirribosomas citosólicos y que contiene una secuencia de dirección a matriz interactúa con el chaperón citosólico Hsp70. A continuación la proteína interactúa con el receptor de membrana externa mt Tom 20/22, y se transfiere hacia el canal de importación vecino Tom 40 (Tom, translocón de la membrana externa). Después la proteína se transloca a través del canal; el canal en la membrana mt interna está en gran parte compuesto de proteínas Tim 23 y Tim 17 (Tim, translocón de la membrana interna). En el lado de la membrana mt interna, interactúa con el chaperón de matriz Hsp70 que, a su vez, interactúa con la proteína de membrana Tim 44. La hidrólisis de ATP por medio de Hsp70 mt probablemente ayuda a impulsar la translocación, como lo hace el interior electronegativo de la matriz. Después la enzima de procesamiento de matriz divide la secuencia de dirección, y la proteína importada adopta su forma final, o puede interactuar con una chaperonina mt antes de esto. En el sitio de translocación, las membranas mt interna y externa se encuentran en estrecho contacto. (Modificada, con autorización, de Lodish H, et al.: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

aposición estrecha en **sitios de contacto** entre las membranas externa e interna.

Lo anterior describe la vía importante de proteínas destinadas a la matriz mitocondrial. Empero, ciertas proteínas se insertan en la **membrana mitocondrial externa**, lo cual es facilitado por el complejo TOM. Otras se detienen en el **espacio intermembrana**, y algunas se insertan en la **membrana interna**. Aún otras proceden hacia la matriz y después regresan a la membrana interna o el espacio intermembrana. Varias proteínas contienen dos secuencias emisoras de señal: una para entrar en la matriz mitocondrial y la otra para mediar la reubicación subsiguiente (p. ej., hacia la membrana interna). Ciertas proteínas mitocondriales no contienen presecuencias (p. ej., citocromo *c*, que se ubica en el espacio intermembrana) y otras contienen **presecuencias internas**. En general, las proteínas emplean diversos mecanismos y rutas para llegar a sus destinos finales en las mitocondrias.

En el cuadro 46-2 se resumen las características generales que se aplican a la importación de proteínas hacia organelos, entre ellos las mitocondrias y algunos de los otros organelos que se comentan más adelante.

CUADRO 46-2 Algunas características generales de la importación de proteínas hacia organelos

- La importación de una proteína hacia un organelo por lo general sucede en tres etapas: reconocimiento, translocación y maduración.
- Las secuencias de dirección sobre la proteína son reconocidas en el citoplasma o sobre la superficie del organelo.
- La proteína por lo general se desdobla para translocación, un estado mantenido en el citoplasma por medio de chaperones.
- El paso de la proteína a través de una membrana necesita energía y chaperones de organelos en el lado *trans* de la membrana.
- Los ciclos de unión y liberación de la proteína al chaperón producen tracción de su cadena polipeptídica a través de la membrana.
- Otras proteínas dentro del organelo catalizan el plegado de la proteína, a menudo fijan cofactores u oligosacáridos y los montan hacia monómeros u oligómeros activos.

Fuente: Datos tomados de McNew JA, Goodman JM: The targeting and assembly of peroxisomal proteins: some old rules do not apply. Trends Biochem Sci 1998;21:54. Reimpreso con autorización de Elsevier.

LAS SEÑALES DE LOCALIZACIÓN, IMPORTINAS Y EXPORTINAS, ESTÁN INVOLUCRADAS EN EL TRANSPORTE DE MACROMOLÉCULAS HACIA ADENTRO Y HACIA AFUERA DEL NÚCLEO

Se ha estimado que en una célula eucariótica activa cada minuto se transportan más de un millón de macromoléculas entre el núcleo y el citoplasma. Estas macromoléculas comprenden histonas, proteínas ribosómicas y subunidades ribosómicas, factores de transcripción y moléculas de mRNA. El transporte es bidireccional y sucede a través de los **complejos de poro nuclear** (NPC). Se trata de estructuras complejas con una masa de unas 15 veces la de un ribosoma, y están compuestas de agregados de alrededor de 30 proteínas diferentes. El diámetro mínimo de un NPC es de alrededor de 9 nm. Las moléculas de menos de alrededor de 40 kDa pueden pasar por el canal del NPC mediante **difusión**, pero hay **mecanismos de translocación particulares** para moléculas de mayor tamaño. Estos mecanismos se están investigando de modo intensivo, pero ya han surgido algunas características importantes.

Aquí se describirá la **importación nuclear** de ciertas macromoléculas. El cuadro general que ha surgido es que las proteínas que se van a importar (moléculas de carga) portan una **señal de localización nuclear (NLS)**. Un ejemplo de una NLS es la secuencia de aminoácidos $(Pro)_2$-$(Lis)_3$-Arg-Lis-Val (cuadro 46-1), bastante rica en residuos lisina básicos. Dependiendo de cuál NLS contiene, una molécula de carga interactúa con una de una familia de proteínas solubles llamada **importinas**, y el complejo se **acopla** de manera transitoria en el NPC. Otra familia de proteínas denominadas **Ran** desempeña una función reguladora crucial en la interacción del complejo con el NPC y en su translocación a través del NPC. Las proteínas Ran son **GTPasas** nucleares monoméricas pequeñas y, al igual que otras GTPasas, existen en estados unidos a GTP o a GDP. Se regulan por sí mismas por medio de **factores de intercambio de nucleótido guanina** (GEF), que están localizados en el núcleo, y **proteínas activadoras de guanina** (GAP) Ran, que son predominantemente citoplásmicas. El estado de Ran unido a GTP se favorece en el núcleo, y el estado unido a GDP, en el citoplasma. Las conformaciones y actividades de moléculas Ran varían dependiendo de si está unido a ellas GTP o GDP (el estado unido a GTP es activo; véase la exposición sobre proteínas G en el cap. 42). Se cree que la **asimetría** entre el núcleo y el citoplasma —respecto a cuál de estos dos nucleótidos está unido a moléculas Ran— es crucial en el entendimiento de las funciones de Ran en la transferencia unidireccional de complejos a través del NPC. Cuando las **moléculas de carga** se **liberan dentro del núcleo**, las **importinas recirculan hacia el citoplasma** para ser usadas de nuevo. La figura 46-4 resume algunas de las características principales en el proceso anterior.

Proteínas similares a las importinas, llamadas **exportinas**, participan en la exportación de muchas macromoléculas (diversas proteínas, moléculas de tRNA, subunidades ribosómicas y ciertas moléculas de mRNA) desde el núcleo. Las moléculas de carga para exportación portan **señales de exportación nuclear (NES)**. Las proteínas Ran también están involucradas en este proceso, y ahora se encuentra establecido que los procesos de importación y exportación comparten varias características. La familia de las importinas y las exportinas se denomina **carioferinas**.

Otro sistema está involucrado en la translocación de casi todas las **moléculas de mRNA**, las cuales se exportan desde el núcleo hacia el citoplasma como complejos de ribonucleoproteína (RNP) fijos a una proteína llamada **exportador mRNP**. Ésta es una molécula heterodimérica (es decir, compuesta de dos subunidades diferentes, TAP y Nxt-1) que acarrea moléculas de RNP a través del NPC. Ran no está involucrada. Este sistema parece usar la hidrólisis de **ATP** mediante una RNA helicasa (Dbp5) para impulsar la translocación.

Otras **GTPasas monoméricas pequeñas** (p. ej., ARF, Rab, Ras y Rho) son importantes en diversos procesos celulares como la formación y el transporte de vesículas (ARF y Rab; véase más adelante), ciertos procesos de crecimiento y diferenciación (Ras), y formación del citoesqueleto de actina. Un proceso que involucra a GTP y GDP también es crucial en el transporte de proteínas a través de la membrana del ER (véase más adelante).

LAS PROTEÍNAS IMPORTADAS HACIA PEROXISOMAS PORTAN SECUENCIAS DE DIRECCIÓN SINGULARES

El **peroxisoma** es un organelo importante involucrado en aspectos del metabolismo de muchas moléculas, entre ellas ácidos grasos y otros lípidos (p. ej., plasmalógenos, colesterol, ácidos biliares), purinas, aminoácidos y peróxido de hidrógeno. El peroxisoma está delimitado por una sola membrana y contiene más de 50 enzimas; la catalasa y la urato oxidasa son enzimas marcadoras para este organelo. Sus proteínas se **sintetizan en polirribosomas citosólicos** y se pliegan antes de la importación. Se han estudiado las vías de importación de varias de sus proteínas y enzimas; algunas son **componentes de matriz** (fig. 46-5) y otras **componentes de membrana**. Se han descubierto por lo menos dos **secuencias de dirección de matriz peroxisómica (PTS)**. Una, la **PTS1**, es un tripéptido (esto es, Ser-Lis-Leu [SKL], pero se han detectado variaciones de esta secuencia) localizado en el carboxilo terminal de varias proteínas de

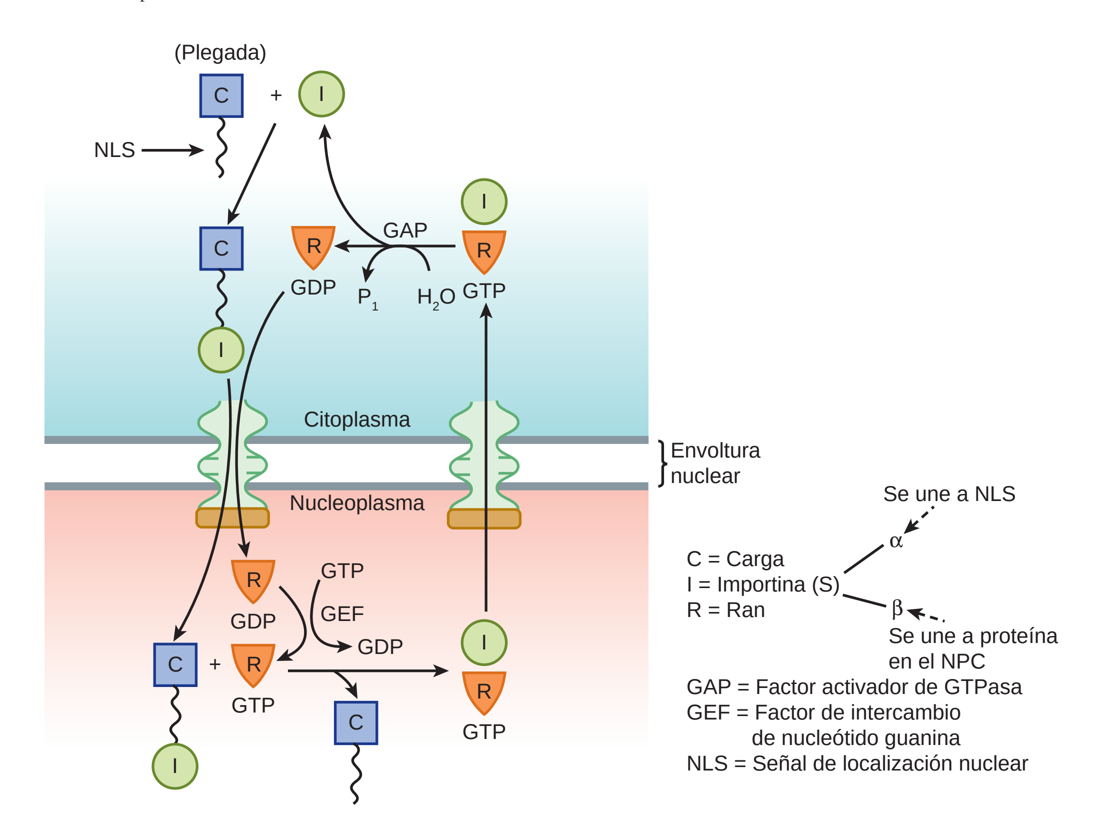


FIGURA 46-4 Representación simplificada de la entrada de una proteína hacia el nucleoplasma. Una molécula de carga en el citoplasma mediante su NLS interactúa para formar un complejo con una importina (parte superior izquierda de la figura). (Ésta puede ser importina α o importina tanto α como β.) Este complejo a continuación interactúa con Ran·GDP y atraviesa el NPC hacia el nucleoplasma. En este último, el GEF convierte Ran·GDP en Ran·GTP, lo que origina un cambio conformacional de Ran, lo que causa liberación de la molécula de carga. El complejo de importina-Ran·GTP a continuación abandona el nucleoplasma por medio del NPC para regresar al citoplasma. En este último, debido a la acción de la proteína activadora de GTP (GAP), que convierte GTP en GDP, la importina se libera para participar en otro ciclo de importación. El Ran·GTP es la forma activa del complejo; la forma Ran·GDP se considera inactiva. Se cree que la direccionalidad es conferida en el proceso general por la disociación de Ran·GTP en el nucleoplasma. (C, molécula de carga; I, importina; NLS, señal localizadora nuclear; NPC, complejo de poro nuclear; GEF, factor de intercambio de nucleótido guanina; GAP, factor activador de GTPasa.) (Modificada, con autorización, de Lodish H, et al.: *Molecular Cell Biology,* 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

matriz, entre ellas la catalasa. Otra, **PTS2**, es un N-terminal y se ha hallado en al menos cuatro proteínas de matriz (p. ej., tiolasa). Ninguna de estas dos secuencias se divide luego de entrar en la matriz. Las proteínas que contienen secuencias de PTS1 **forman complejos** con una proteína receptora citosólica **(Pex5)** y las proteínas que contienen secuencias PTS2 forman complejos con otra proteína receptora. Los complejos resultantes después interactúan con un complejo de receptor de membrana, **Pex2/10/12**, que los transloca hacia la matriz. También hay proteínas involucradas en el transporte adicional de proteínas hacia la matriz. Pex5 se recicla hacia el citosol. Se ha encontrado que casi todas las **proteínas de membrana** peroxisómicas no contienen ninguna de las dos secuencias de dirección anteriores, pero parece ser que contienen otras. El sistema de importación puede manejar **oligómeros intactos** (p. ej., catalasa tetramérica). La importación de **proteínas de matriz** necesita **ATP**, no así la de **proteínas de membrana**.

La mayor parte de los casos de síndrome de Zellweger se debe a mutaciones en genes involucrados en las biogénesis de peroxisomas

Estudios sobre el **síndrome de Zellweger** han estimulado el interés por la importación de proteínas hacia peroxisomas. Dicho síndrome se manifiesta en el momento del nacimiento y se caracteriza por **deterioro neurológico profundo**; las víctimas suelen morir durante un año. El número de peroxisomas puede variar desde ser casi normales hasta falta casi total en algunos pacientes. Los datos bioquímicos incluyen una acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga, anormalidades de las síntesis de ácidos biliares, así como una notoria disminución de los plasmalógenos. Parece que la enfermedad se debe a **mutaciones** en genes que codifican para ciertas proteínas —denominadas **peroxinas**— involucradas en varios pasos de

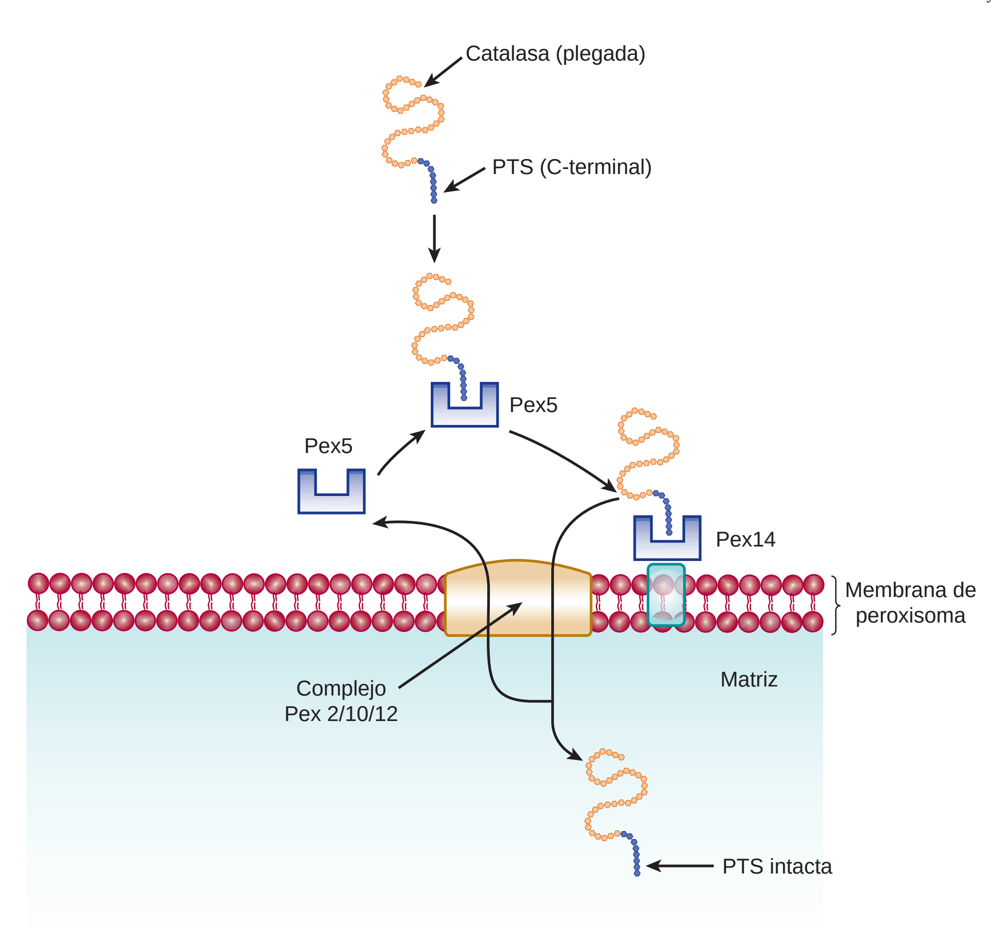


FIGURA 46-5 Representación esquemática de la entrada de una proteína hacia la matriz peroxisómica. La proteína que se va a importar hacia la matriz se sintetiza en polirribosomas citosólicos, adopta su forma plegada antes de la importación, y contiene una secuencia de dirección peroxisómica (PTS) C-terminal. Interactúa con la proteína receptora citosólica Pex5, y el complejo a continuación interactúa con un receptor sobre la membrana peroxisómica, Pex14. A su vez, el complejo de proteína-Pex14 pasa hacia el complejo de Pex 2/10/12 en la membrana peroxisómica y se transloca. Pex5 se regresa hacia el citosol. La proteína retiene su PTS en la matriz. (Modificada, con autorización, de Lodish H, *et al.*: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. W.H. Freeman & Co., 2008.)

la **biogénesis de peroxisoma** (como la importación de proteínas antes descrita), o en genes que codifican para **ciertas enzimas peroxisómicas** por sí mismos. Dos enfermedades estrechamente vinculadas son la **adrenoleucodistrofia neonatal** y la **enfermedad de Refsum infantil**. El síndrome de Zellweger y estas dos enfermedades representan un **espectro** de características que se superponen; el síndrome de Zellweger es el **más grave** (afección de muchas proteínas) y la enfermedad de Refsum infantil es la menos grave (sólo una o algunas proteínas afectadas). El cuadro 46-3 lista estas enfermedades y otras enfermedades relacionadas.

LA HIPÓTESIS DE LA SEÑAL EXPLICA DE QUÉ MODO LOS POLIRRIBOSOMAS SE UNEN AL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

Como se indicó, la **rama del ER rugoso** es la segunda de las dos ramas comprendidas en la síntesis y distribución de proteínas. En esta rama, las proteínas se sintetizan en **polirribosomas unidos a membrana** y se **translocan hacia la luz** del ER rugoso antes de la distribución adicional (fig. 46-2).

Blobel y Sabatini propusieron la **hipótesis de la señal** en parte para explicar la distinción entre polirribosomas libres y unidos a membrana. Hallaron que las proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana contenían una extensión peptídica **(péptido señal)** en sus amino terminales que mediaba su fijación a las membranas del ER. Como se mencionó, las proteínas cuya síntesis entera ocurre en polirribosomas libres carecen de este péptido señal. Un aspecto importante de la hipótesis de la señal fue que sugirió —como resulta ser— que **todos los ribosomas tienen la misma es-**

CUADRO 46-3 Trastornos debidos a anormalidades de peroxisomas

	Número de OMIM[1]
Síndrome de Zellweger	214100
Adrenoleucodistrofia neonatal	202370
Enfermedad de Refsum infantil	266510
Acidemia hiperpipecólica	239400
Condrodisplasia rizomélica punteada	215100
Adrenoleucodistrofia	300100
Seudoadrenoleucodistrofia neonatal	264470
Seudosíndrome de Zellweger	261515
Hiperoxaluria tipo I	259900
Acatalasemia	115500
Deficiencia de glutaril-CoA oxidasa	231690

Fuente: Reproducido, con autorización, de Seashore MR, Wappner RS: *Genetics in Primary Care & Clinical Medicine.* Appleton & Lange, 1996.
[1] OMIM = *Online Mendelian Inheritance in Man.* Cada número especifica una referencia en la cual puede hallarse información en cuanto a cada una de las enfermedades anteriores.

CUADRO 46-4 Algunas propiedades de los péptidos señal

• Por lo regular están localizados en el amino terminal
• Contienen de 12 a 35 aminoácidos
• La metionina por lo general es el aminoácido amino terminal
• Contienen una agrupación central de aminoácidos hidrofóbicos
• Contienen al menos un aminoácido con carga positiva cerca de su amino terminal
• Por lo general se dividen en el extremo carboxilo terminal de un residuo Ala mediante señal peptidasa

tructura, y que la distinción entre ribosomas unidos a membrana y libres depende sólo de las proteínas acarreadoras anteriores que tienen péptidos señal. Mucha evidencia ha confirmado la hipótesis original. Dado que muchas proteínas de membrana se sintetizan en polirribosomas unidos a membrana, la hipótesis de la señal tiene importancia en **conceptos de montaje de membrana**. El cuadro 46-4 resume algunas características de los **péptidos señal**.

La figura 46-6 ilustra las características principales en relación con el paso de una **proteína secretada** a través de la membrana del ER. Incorpora características de la hipótesis de la señal original y de investigación subsiguiente. El mRNA para ese tipo de proteína codifica para un **péptido señal** amino terminal (también llamado de manera variada secuencia líder, señal de inserción transitoria, secuencia de señal, o presecuencia). La hipótesis de la señal propuso que la proteína se inserta en la membrana del ER al mismo tiempo que su mRNA se está traduciendo en polirribosomas, la denominada **inserción cotraduccional**. Conforme el péptido señal surge de la subunidad grande del ribosoma, es reconocido por una **partícula de reconocimiento de señal (SRP)** que bloquea la traducción adicional luego de que se han polimerizado aproximadamente 70 aminoácidos (40 sepultados en la subunidad ribosómica grande y 30 expuestos). El bloqueo se llama **paro de elongación**. La SRP contiene **seis proteínas** y tiene un **RNA 7S** relacionado con ella, estrechamente vinculado con la familia Alu de secuencias de DNA muy repetidas (cap. 35). El bloqueo impuesto por SRP no se libera sino hasta que el complejo de SRP-péptido señal-polirribosoma se ha unido a la denominada **proteína de acoplamiento** (SRP-R, un receptor para la SRP) en la membrana del ER; de este modo, la SRP guía el péptido señal hacia la SRP-R, e impide el plegado y la expulsión hacia el citosol prematuros de la proteína que se está sintetizando.

La **SRP-R** es una proteína de membrana integral compuesta de **subunidades α** y **β**. La subunidad α **se une a GDP**, y la subunidad β abarca la membrana. Cuando el complejo de SRP-péptido señal

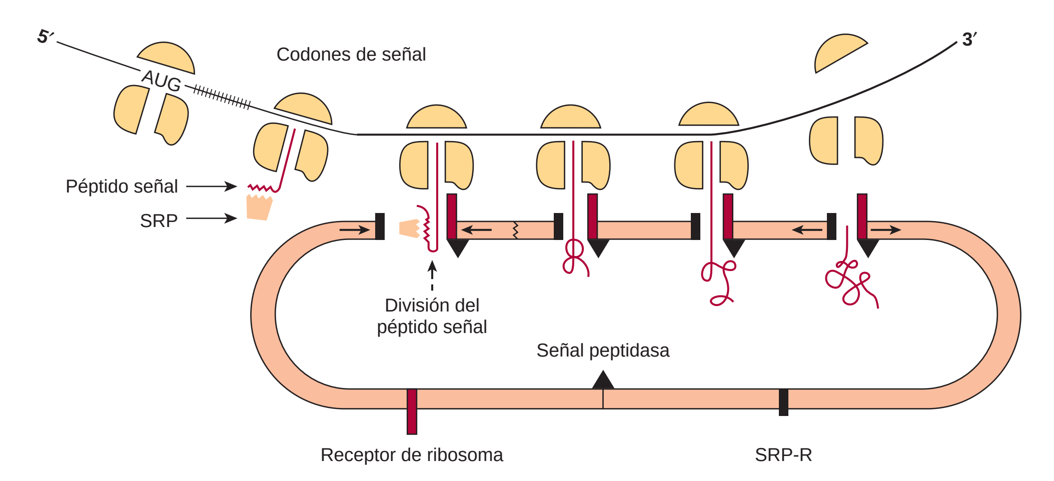


FIGURA 46-6 Diagrama de la hipótesis de señal para el transporte de proteínas secretadas a través de la membrana del ER. Los ribosomas que sintetizan una proteína se mueven a lo largo de RNA mensajero que especifica la secuencia de aminoácidos de la proteína. (El RNA mensajero está representado por la línea entre 5′ y 3′.) El codón AUG marca el inicio del mensaje para la proteína; las líneas con trama que siguen a AUG representan los codones para la secuencia de señal. A medida que la proteína crece hacia afuera de la subunidad ribosómica de mayor tamaño, la secuencia de señal se expone y es unida por la partícula de reconocimiento de señal (SRP). La traducción se bloquea hasta que el complejo se une a la "proteína de acoplamiento", también designada SRP-R (representada por medio de la barra de color negro) en la membrana del ER. Asimismo, hay un receptor (barra de color rojo) para el ribosoma en sí. La interacción del ribosoma y la cadena peptídica en crecimiento con la membrana ER suscita la abertura de un canal a través del cual la proteína se transporta hacia el espacio interior del ER. En el transcurso de la translocación, la secuencia de señal de casi todas las proteínas es eliminada por una enzima que se denomina la "señal peptidasa", localizada en la superficie luminal de la membrana del ER. La proteína completada finalmente es liberada por el ribosoma, que a continuación se separa hacia sus dos componentes: las subunidades ribosómicas grande y pequeña. La proteína termina dentro del ER. Véanse más detalles en el texto. (Modificada y reproducida, con autorización, de Marx JL: Newly made proteins zip through the cell. Science 1980;207:164. Copyright ©1980 por la American Association for the Advancement of Science.)

interactúa con el receptor, se estimula el **intercambio de GDP por GTP**. Esta forma del receptor (con GTP unida) tiene **afinidad alta por la SRP** y, así, **libera el péptido señal**, que se une a la maquinaria de translocación (translocón) también presente en la membrana del ER. A continuación, la subunidad α **hidroliza su GTP unido**, lo que restituye GDP y completa un ciclo de GTP-GDP. La **unidireccionalidad** de este ciclo ayuda a impulsar la interacción del polirribosoma y su péptido señal con la membrana del ER en la dirección anterógrada.

El **translocón** consta de tres proteínas de membrana (el **complejo Sec61**) que forma un **canal conductor de proteínas** en la membrana del ER, a través del cual puede pasar la proteína recién sintetizada. El canal parece **únicamente estar abierto cuando hay un péptido señal**, lo que preserva la conductancia a través de la membrana del ER cuando se cierra. La conductancia del canal se ha medido experimentalmente.

La inserción del péptido señal en el canal conductor, mientras el otro extremo de la proteína original aún está fijo a los ribosomas, se llama **"inserción cotraduccional"**. El proceso de alargamiento de la parte restante de la proteína probablemente facilita el paso de la proteína naciente a través de la bicapa lipídica puesto que los ribosomas permanecen fijos a la membrana del ER. De esta manera, se forma el ER rugoso (o tachonado de ribosomas). Es importante que la proteína se mantenga en un **estado no plegado** antes de entrar al canal conductor; de otro modo, quizá sea incapaz de tener acceso al canal.

Los ribosomas permanecen fijos al ER en el transcurso de la síntesis de proteínas que contienen péptido señal, pero cuando se completa el proceso se **liberan** y **disocian** hacia sus dos tipos de subunidades. El péptido señal se hidroliza por medio de la **señal peptidasa**, ubicada en el lado luminal de la membrana del ER (fig. 46-6), y después al parecer es degradado con rapidez por proteasas.

El **citocromo P450** (cap. 53), una proteína integral de la membrana del ER, no cruza por completo la membrana. En lugar de eso, reside en la membrana con su péptido señal intacto. Su paso a través de la membrana es evitado por una secuencia de aminoácidos que se llama **señal de suspensión** o **cese de transferencia**.

Las **proteínas secretorias** y las **proteínas solubles destinadas para organelos distales al ER** cruzan por completo la bicapa de la membrana, y se descargan hacia la luz del ER. Si están presentes, se añaden **cadenas de *N*-glicano** (cap. 47), dado que estas proteínas atraviesan la parte interna de la membrana del ER, proceso denominado "**glicosilación cotraduccional**". Después, las proteínas se encuentran en la **luz del aparato de Golgi**, donde suceden cambios adicionales de las cadenas de glicano (fig. 47-9) antes de la distribución o secreción intracelular. Hay fuerte evidencia de que el **péptido señal** está involucrado en el proceso de la **inserción** de proteína **hacia membranas del ER**. Las proteínas mutantes, que contienen péptidos señal alterados en los cuales un aminoácido hidrofóbico es remplazado por uno hidrofílico, no se insertan en las membranas del ER. Proteínas no de membrana (p. ej., globina α) a las cuales se han fijado péptidos señal mediante procedimientos de ingeniería genética, se pueden insertar en la luz del ER, o incluso secretar.

Hay evidencia de que la membrana del ER está involucrada en el **transporte retrógrado** de diversas moléculas desde la luz del ER **hacia el citosol**. Estas moléculas incluyen glucoproteínas no plegadas o plegadas de manera errónea, glicopéptidos y oligosacáridos. Por lo menos algunas de estas moléculas se **degradan en proteasomas** (véase más adelante). No está claro si el translocón está involucrado en la retrotranslocación; pueden estar implicados uno o más de otros canales. Cualquiera que sea el caso, hay **tráfico bidireccional** a través de la membrana del ER.

LAS PROTEÍNAS SIGUEN VARIAS RUTAS PARA INSERTARSE EN LAS MEMBRANAS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO, O PARA FIJARSE A LAS MISMAS

Las rutas que siguen las proteínas que se van a insertar en las membranas del ER son:

Inserción cotraduccional

La figura 46-7 muestra diversos modos en los cuales las proteínas se distribuyen en la membrana plasmática. En particular, puede observarse que los **amino terminales** de ciertas proteínas (p. ej., el receptor de LDL) están en la cara extracitoplásmica, mientras que para otras proteínas (p. ej., el receptor de asialoglucoproteína) los **carboxilo terminales** se encuentran en esta cara. Para explicar estas disposiciones, es necesario considerar los eventos biosintéticos iniciales en la membrana del ER. El **receptor de LDL** entra en la membrana y el ER de una manera análoga a una proteína secretoria (fig. 46-6); atraviesa en parte la membrana del ER, su péptido señal se divide, y su amino terminal sobresale hacia la luz. Con todo, se **retiene en la membrana** porque contiene un segmento muy hidrofóbico, la **señal de suspensión o cese de transferencia**. Esta secuencia forma el segmento transmembrana único de la proteína y su dominio de fijación a la membrana. El pequeño parche de membrana del ER en el cual está localizado el receptor de LDL recién sintetizado después **brota** como un componente de una **vesícula de transporte**. Como se describe más adelante en la exposición sobre asimetría de proteínas y lípidos en montaje de membrana, la disposición del receptor en la membrana del ER está preservada en la vesícula, que finalmente se fusiona con la membrana plasmática. En contraste, el **receptor de asialoglucoproteína** posee una **secuencia de inserción interna**, que se inserta en la membrana pero **no se divide**. Esto actúa como un **ancla**, y su carboxilo terminal muestra extrusión a través de la membrana. La **disposición más compleja** de los **transportadores** (p. ej., para glucosa) puede explicarse por el hecho de que las hélices α transmembrana **alternantes** actúan como **secuencias de inserción no divididas** y como **señales de suspensión de transferencia**, respectivamente. Cada par de segmentos helicoidales se inserta como una **horquilla**. Las secuencias que determinan la estructura de una proteína en una membrana se llaman **secuencias topogénicas**. Las tres proteínas anteriores son ejemplos de proteínas transmembrana **tipos I**, **II** y **IV** (pie de la fig. 46-7).

Síntesis en polirribosomas libres, y fijación subsiguiente a la membrana del retículo endoplásmico

Un ejemplo es el **citocromo b_5**, que entra en la membrana del ER de modo espontáneo.

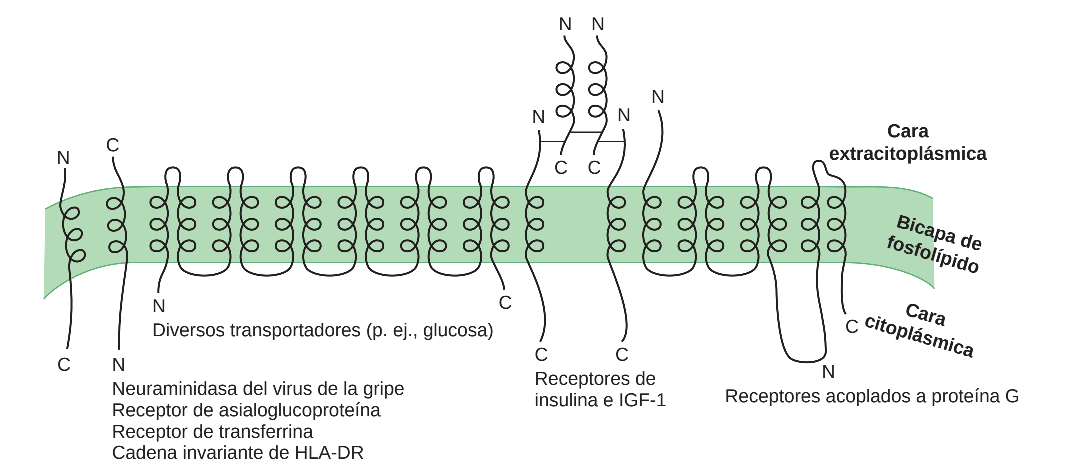


FIGURA 46-7 Variaciones del modo en el cual las proteínas se insertan hacia membranas. Esta representación esquemática, que ilustra varias orientaciones posibles, muestra los segmentos de las proteínas dentro de la membrana como hélices α, y los otros segmentos como líneas. El receptor de LDL, que cruza la membrana una vez y tiene su amino terminal en el exterior, se llama proteína transmembrana tipo I. El receptor de asialoglucoproteína, que también cruza la membrana una vez pero tiene su carboxilo terminal en el exterior, se denomina proteína transmembrana tipo II. El citocromo P450 (que no se muestra) es un ejemplo de una proteína transmembrana tipo III; su disposición es similar a la de las proteínas tipo I, pero no contiene una secuencia de señal divisible. Los diversos transportadores indicados (p. ej., glucosa) cruzan la membrana varias veces, y se llaman proteínas transmembrana tipo IV; también se denominan proteínas de membrana politópicas. (N, amino terminal; C, carboxilo terminal.) (Adaptada, con autorización, de Wickner WT, Lodish HF: Multiple mechanisms of protein insertion into and across membranes. Science 1985;230:400. Copyright ©1985 por la American Association for the Advancement of Science.)

Retención en la cara luminal del retículo endoplásmico por secuencias de aminoácidos específicas

Varias proteínas poseen la secuencia de aminoácidos **KDEL** (Lis-Asp-Glu-Leu) en su carboxilo terminal (cuadro 46-1). Las proteínas que contienen KDEL viajan primero hacia el **GA** en vesículas de transporte COPII (véase más adelante), interactúan con una proteína receptora de KDEL específica, y luego **regresan en vesículas de transporte COPI hacia el ER**, donde se disocian del receptor.

Transporte retrógrado desde el aparato de Golgi

Ciertas otras **proteínas que no contienen KDEL** destinadas a las membranas del ER también pasan al aparato de Golgi y después regresan, mediante **transporte vesicular retrógrado**, al ER para ser insertadas allí (véase más adelante).

Los párrafos anteriores demuestran que **diversas rutas** participan en el montaje de las proteínas de las membranas del ER; una situación similar probablemente ocurre para otras membranas (p. ej., las membranas mitocondriales y la membrana plasmática). En algunos casos se han identificado secuencias de dirección precisas (p. ej., secuencias KDEL).

El tema de la biogénesis de membrana se comenta más adelante en este capítulo.

LOS CHAPERONES SON PROTEÍNAS QUE IMPIDEN EL PLEGADO DEFECTUOSO E INTERACCIONES NO PRODUCTIVAS DE OTRAS PROTEÍNAS

Ya se hizo referencia a los **chaperones moleculares** en este capítulo. El cuadro 46-5 lista varias propiedades importantes de estas proteínas y en el cuadro 46-6 se encuentran los nombres de algunas de importancia especial en el ER. Básicamente, **estabilizan intermediarios no plegados o plegados de manera parcial**, lo que les otorga tiempo para plegarse de manera apropiada, y evitan interacciones inapropiadas; ello combate la formación de estructuras no funcionales. Casi todos los chaperones muestran **actividad de ATPasa** y se unen a ADP y ATP. Esta actividad tiene importancia para su efecto sobre el plegado de proteína. El complejo de ADP-chaperón a menudo tiene afinidad alta por la proteína no plegada, que, cuando se une, estimula la liberación de ADP con remplazo por ATP. El complejo de ATP-chaperón, a su vez, libera segmentos de la proteína que se han plegado de modo apropiado, y el **ciclo** que involucra unión de ADP y ATP se repite hasta que se libera la proteína.

Las **chaperoninas** son la segunda clase principal de chaperones. Forman **estructuras parecidas a barril** complejas en las cuales se retiene una proteína no plegada, lo que le da tiempo y condiciones idóneas en las cuales plegarse de manera apropiada. La chaperonina mt-GroEL se ha estudiado mucho. Es polimérica, tiene dos estructuras

CUADRO 46-5 Algunas propiedades de proteínas chaperón

• Están presentes en una amplia gama de especies, desde bacterias hasta seres humanos
• Muchas son las llamadas proteínas de choque por calor (Hsp)
• Algunas son inducibles por condiciones que ocasionan desdoblamiento de proteínas recién sintetizadas (p. ej., temperatura alta y diversas sustancias químicas)
• Se unen a regiones predominantemente hidrofóbicas de proteínas desdobladas e impiden su agregación
• Actúan en parte como un control de calidad o mecanismo de edición para detectar proteínas plegadas de modo erróneo o por lo demás defectuosas
• Casi todos los chaperones muestran actividad de ATPasa asociada; el ATP o ADP está involucrado en la interacción entre proteína y chaperón
• Se encuentran en diversos compartimientos celulares, como el citosol, las mitocondrias y la luz del retículo endoplásmico

CUADRO 46-6 Algunos chaperones y enzimas involucrados en el plegado, que están localizados en el retículo endoplásmico rugoso

• BiP (proteína de unión a cadena pesada de inmunoglobulina)
• GRP94 (proteína regulada por glucosa)
• Calnexina
• Calreticulina
• PDI (proteína disulfuro isomerasa)
• PPI (peptidil prolil *cis-trans* isomerasa)

parecidas a anillo, cada una de las cuales está compuesta de siete subunidades idénticas, y, de nuevo, el ATP está involucrado en su acción.

Cuando se comentó la clasificación de proteínas mitocondriales se presentaron varios ejemplos de chaperones. La **proteína de unión (BiP) a la cadena pesada de inmunoglobulina** está ubicada en la luz del ER. Esta proteína **promueve el plegado apropiado al impedir la agregación** y se unirá a cadenas pesadas de inmunoglobulina y ciertas otras proteínas plegadas de modo anormal, y evita que abandonen el ER. Otro chaperón importante es la **calnexina**, una proteína de unión a calcio localizada en la membrana del ER. Esta proteína se une a una amplia variedad de proteínas, entre ellas antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) y diversas proteínas plasmáticas. Como se describe en el capítulo 47, la calnexina se une a la especie monoglicosilada de glucoproteínas que surge durante el procesamiento de estas últimas, y las retiene en el ER hasta que la glucoproteína se ha plegado de manera apropiada. La **calreticulina**, que también es una proteína de unión a calcio, tiene propiedades similares a las de la calnexina; no está unida a membrana. Los chaperones no son las únicas proteínas en la luz del ER que se encargan del plegado apropiado de proteínas. Hay dos **enzimas** que tienen una función activa en el plegado. La **proteína disulfuro isomerasa (PDI)** promueve la **formación** de enlaces disulfuro, y la formación y rotura sucesivas de los mismos, hasta que se logra el juego correcto. La **peptidil prolil isomerasa (PPI)** acelera el plegado de proteínas que contienen prolina al catalizar la isomerización cis-trans de enlaces X-Pro, donde X es cualquier residuo aminoácido.

LA ACUMULACIÓN DE PROTEÍNAS PLEGADAS DE MODO ERRÓNEO EN EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO PUEDE INDUCIR LA RESPUESTA A PROTEÍNAS DESDOBLADAS (UPR)

El mantenimiento de la **homeostasis en el ER** es importante para la función celular normal. La perturbación del ambiente singular dentro de la luz del ER (p. ej., cambios en el Ca^{2+} del ER, alteraciones del estado redox, exposición a diversas toxinas o algunos virus) puede llevar a decremento de la capacidad de plegado de proteína y a acumulación de proteínas plegadas de manera errónea. La acumulación de estas últimas en el ER se denomina estrés del ER. La célula ha adquirido por evolución un mecanismo llamado la UPR para detectar las concentraciones de proteínas plegadas de modo erróneo e iniciar mecanismos de emisión de señales intracelulares para compensar las condiciones de estrés y restituir la homeostasis del ER. La UPR se inicia por sensores de estrés del ER, que son proteínas transmembrana incrustadas en la membrana del ER. La activación de estos sensores de estrés origina tres efectos principales: inhibición transitoria de la traducción para aminorar la cantidad de proteínas recién sintetizadas, e inducción de una respuesta transcripcional que conduce a aumento de la expresión de chaperones del ER y de proteínas involucradas en la degradación de proteínas del ER plegadas de manera errónea (véase más adelante). En consecuencia, la UPR incrementa la capacidad de plegado en el ER e impide la acumulación de productos proteínicos improductivos y en potencia tóxicos, además de otras respuestas para restituir la homeostasis celular. No obstante, si persiste el deterioro del plegado, se activan vías de muerte celular (apoptosis). Una comprensión más completa de la UPR probablemente proporcione nuevos métodos para tratar enfermedades en las cuales ocurren estrés del ER y plegado defectuoso de proteína (cuadro 46-7).

LAS PROTEÍNAS PLEGADAS DE MODO ERRÓNEO PASAN POR DEGRADACIÓN ASOCIADA CON EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO (ERAD)

Las proteínas plegadas de manera errónea surgen en muchas enfermedades genéticas (cuadro 46-7). Las proteínas que se pliegan de modo erróneo en el ER **se transportan de regreso a través del ER (retrotranslocación o dislocación)** de manera selectiva para entrar en **proteasomas** presentes en el citosol. La ruta precisa por la cual las proteínas plegadas de modo erróneo pasan de regreso a través de la membrana del ER todavía está en investigación. Si está involucrado un canal, no parece ser el translocón (complejo Sec61) antes descrito, aun cuando tal vez contenga algunos de sus componentes. La energía para la translocación parece ser proporcionada al menos en parte por **p97**, una AAA-ATPasa (una de una familia de **A**TPasas **A**sociadas con diversas **A**ctividades celulares). Los **chaperones** presentes en la luz del ER (p. ej., BiP) y en el citosol ayudan a dirigir proteínas plegadas de manera errónea hacia proteasomas. Antes de entrar a estos últimos, casi todas las proteínas pasan por **ubiquitinación** (véase el párrafo siguiente) y son acompañadas hacia proteasomas por proteínas de unión a poliubiquitina. Las ubiquitina

CUADRO 46-7 Algunas enfermedades conformacionales causadas por anormalidades del transporte intracelular de proteínas y enzimas específicas debidas a mutaciones[1]

Enfermedad	Proteína afectada
Deficiencia de α_1-antitripsina con enfermedad del hígado (OMIM 107400)	α_1-Antitripsina
Síndrome de Chediak-Higashi (OMIM 214500)	Regulador del tráfico lisosómico
Deficiencia combinada de factores V y VIII (OMIM 227300)	ERGIC53, una lectina de unión a manosa
Fibrosis quística (OMIM 219700)	CFTR
Diabetes mellitus (algunos casos) (OMIM 147670)	Receptor de insulina (subunidad α)
Hipercolesterolemia familiar, autosómica dominante (OMIM 143890)	Receptor de LDL
Enfermedad de Gaucher (OMIM 230800)	β-glucosidasa
Hemofilia A (OMIM 306700) y B (OMIM 306900)	Factores VIII y IX
Hemocromatosis hereditaria (OMIM 235200)	HFE
Síndrome de Hermansky-Pudlak (OMIM 203300)	Subunidad β3A del complejo adaptador AP-3
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	N-acetilglucosamina 1-fosfo-transferasa
Síndrome oculocerebrorrenal de Lowe (OMIM 309000)	PIP_2 5-fosfatasa
Enfermedad de Tay-Sachs (OMIM 272800)	β-Hexosaminidasa
Enfermedad de von Willebrand (OMIM 193400)	Factor de von Willebrand

Abreviaturas: PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato.
Nota: Los lectores deben consultar tratados de medicina o pediatría para obtener información sobre las manifestaciones clínicas de las enfermedades listadas.
[1]Véase Schroder M, Kaufman RJ: The Mammalian Unfolded Protein Response. Annu Rev Biochem 2005;74, 739 y Olkonnen V, Ikonen E: Genetic defects of intracellular membrane transport. N Engl J Med 2000;343: 10095.

ligasas están presentes en la membrana del ER. El proceso anterior se denomina ERAD (fig. 46-8).

LA UBIQUITINA ES UNA MOLÉCULA CLAVE EN LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNA

Hay dos vías importantes de degradación de proteínas en eucariotas. Una comprende **proteasas lisosómicas** y no requiere ATP. La otra vía incluye **ubiquitina** y es dependiente de ATP. Tiene una función importante en la degradación de proteínas, y se asocia en particular con la **eliminación de proteínas plegadas de modo erróneo, y con enzimas reguladoras que tienen vida media breve**. La investigación sobre la ubiquitina se ha expandido con rapidez, y se sabe que está involucrada en la **regulación del ciclo celular** (degradación de ciclinas), **reparación del DNA**, **activación del NFκB** (cap. 50), **emaciación muscular**, **infecciones virales**, y **muchos otros** procesos fisiológicos y patológicos importantes. La ubiquitina es una **proteína pequeña** (76 aminoácidos), **muy conservada**, que desempeña una función clave en el **marcado** de diversas proteínas para **degradación en proteasomas** subsiguiente. La figura 46-9 muestra el mecanismo de fijación de la ubiquitina a una proteína blanco (p. ej., una forma de CFTR plegada de manera errónea, la proteína involucrada en el origen de la fibrosis quística; caps. 40 y 54), y comprende tres enzimas: una **enzima activadora**, una **enzima conjugadora** y una **ligasa**. Hay varios tipos de enzimas conjugadoras y, de manera sorprendente, algunos cientos de ligasas diferentes. Es esta última enzima la que confiere especificidad de sustrato. Una vez que la molécula de ubiquitina está fija a la proteína, varias otras también se fijan, lo que da por resultado una **proteína blanco poliubiquitinada**. Se ha estimado que debe fijarse un **mínimo de cuatro moléculas de ubiquitina** para comprometer a una molécula blanco a degradación en un proteasoma. La ubiquitina se puede **dividir** desde una proteína blanco por medio de **enzimas** que producen desubiquitinación y la ubiquitina liberada se puede volver a emplear.

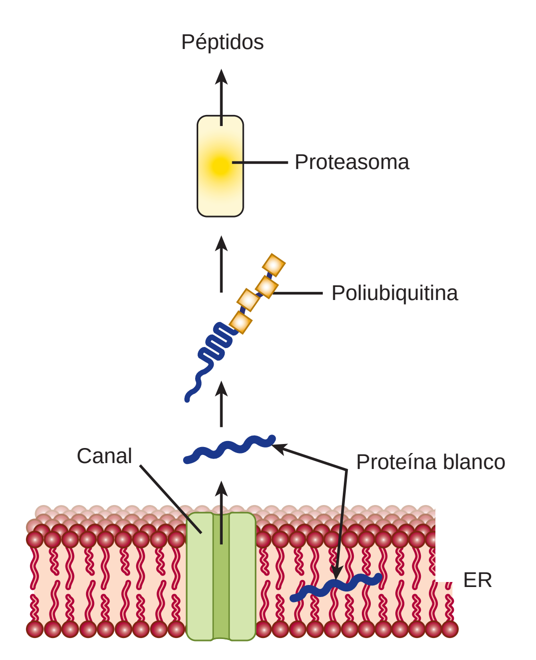


FIGURA 46-8 Diagrama esquemático de los eventos el la ERAD. Una proteína blanco (que puede estar plegada de manera errónea o plegada normalmente) pasa por transporte retrógrado a través de la membrana del ER hacia el citosol, donde queda sujeta a poliubiquitinación. Después de esta última, entra en un proteasoma, dentro del cual se degrada hacia péptidos pequeños que salen y pueden tener varios destinos. Las moléculas de ubiquitina liberadas se reciclan. Aún se desconoce la ruta precisa mediante la cual las proteínas plegadas de modo erróneo pasan de regreso a través de la membrana del ER; es posible que exista un canal (como se muestra en la figura), pero que al parecer no se ha establecido.

Las proteínas ubiquitinadas se degradan en proteasomas

Las proteínas blanco poliubiquitinadas entran en los proteasomas, localizados en el citosol. El proteasoma es una **estructura cilíndrica** relativamente **grande**, compuesta por alrededor de 50 **subunidades**. El proteasoma tiene un **centro** hueco, y una o dos **cubiertas** que desempeñan una función reguladora. Las proteínas blanco son **desdobladas** por ATPasas presentes en las cubiertas de proteasoma.

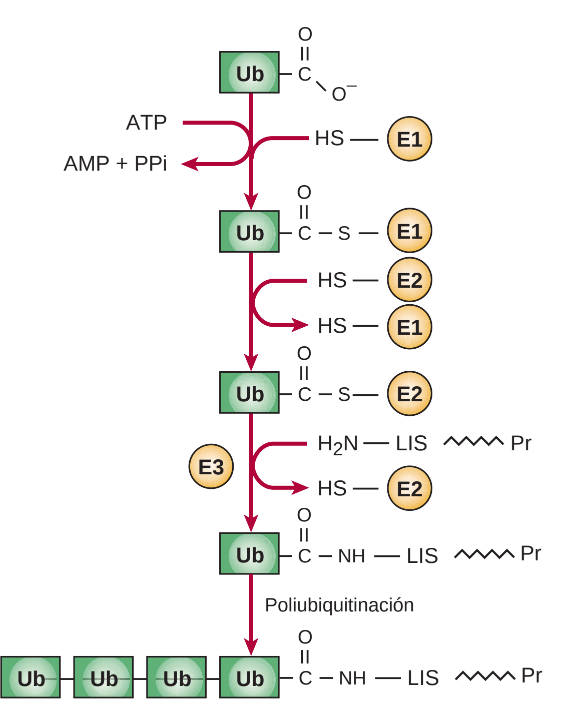


FIGURA 46-9 Secuencia de reacciones además de la ubiquitina hacia una proteína blanco. En la reacción catalizada por E1, el grupo COO^- C-terminal de ubiquitina está enlazado en un enlace tioéster a un grupo SH de E1. En la reacción catalizada por E2, la ubiquitina activada se transfiere hacia un grupo SH de E2. En la reacción catalizada por E3, la ubiquitina se transfiere desde E2 hacia un grupo ϵ-amino en una lisina de la proteína blanco. A continuación rondas adicionales de ubiquitinación construyen la cadena de poliubiquitina. (Ub, ubiquitina; E1, enzima activadora; E2, enzima conjugadora; E3, ligasa; LIS ∿∿∿ Pr, proteína blanco.)

Los proteasomas pueden hidrolizar una variedad muy amplia de enlaces peptídicos. Las proteínas blanco pasan hacia el centro para degradarse hacia péptidos pequeños, que luego salen del proteasoma (fig. 46-8) para ser más degradados por peptidasas citosólicas. Los sustratos para el proteasoma son proteínas plegadas tanto normalmente como de modo anormal. Las moléculas de ubiquitina liberadas se reciclan. El proteasoma desempeña una función importante en la **presentación de péptidos pequeños** producidos por **degradación de diversos virus** y otras **moléculas clase I del MHC**, un paso clave en la presentación de antígeno a linfocitos T.

LAS VESÍCULAS DE TRANSPORTE TIENEN UNA PARTICIPACIÓN CLAVE EN EL TRÁFICO DE PROTEÍNA INTRACELULAR

Las proteínas que se sintetizan en polirribosomas unidos a membrana y están destinadas al GA o a la PM alcanzan estos sitios dentro de **vesículas de transporte**. Las vesículas involucradas en el **transporte anterógrado** (COPII) desde el ER hacia el GA, y en el **transporte retrógrado** (COPI) desde el GA hacia el ER están libres de clatrina. Las vesículas de transporte y secretorias que portan carga desde el GA hacia la PM también están libres de clatrina. Las vesículas involucradas en la endocitosis (véanse las exposiciones sobre el receptor de LDL en los caps. 25 y 26) están cubiertas por clatrina, al igual que ciertas vesículas que llevan carga hacia lisosomas. En aras de la claridad, en este libro se hace referencia a las vesículas que no están cubiertas por clatrina como **vesículas de transporte**. En el cuadro 46-8 se resumen **los tipos** y **funciones** de las vesículas importantes identificadas hasta la fecha.

CUADRO 46-8 Algunos tipos de vesículas y sus funciones

Vesícula	Función
COPI	Participa en el transporte intra-GA y el transporte retrógrado desde el GA hacia el ER
COPII	Participa en la exportación desde el ER hacia el ERGIC o el GA
Clatrina	Participa en el transporte de ubicaciones pos-GA, entre ellas la PM, TGN y endosomas
Vesículas secretorias	Participa en la secreción regulada desde órganos como el páncreas (p. ej., secreción de insulina)
Vesículas del TGN a la PM	Portan proteínas hacia la PM y participan también en la secreción constitutiva

Abreviaturas: GA, aparato de Golgi; ER, retículo endoplásmico; ERGIC, compartimiento intermedio del ER-GA; PM, membrana plasmática; TGN, red *trans*-Golgi.
Nota: Cada vesícula tiene su propio juego de proteínas de cubierta. La clatrina muestra vínculo con diversas proteínas adaptadoras (AP), p. ej., AP-1, AP-2 y AP-3, lo que forma diferentes tipos de vesículas de clatrina. Estas diversas vesículas de clatrina tienen blancos intracelulares diferentes. Las proteínas de vesículas secretorias y vesículas involucradas en el transporte desde el GA hacia la PM no se encuentran bien caracterizadas; tampoco lo están los mecanismos involucrados en sus formaciones y destinos.

El modelo de vesículas de transporte involucra SNARE y otros factores

Las **vesículas** son el quid del transporte intracelular de muchas proteínas. Se ha logrado progreso importante en el entendimiento de los eventos involucrados en la formación y el transporte de vesículas. Esto ha ocurrido debido al uso de diversos métodos. Han sido cruciales en especial el uso por Schekman y colegas de **métodos genéticos para el estudio de vesículas en levaduras**, y la creación por Rothman y colegas de **sistemas libres de células** para estudiar la formación de vesículas. Por ejemplo, mediante microscopia electrónica es posible observar el brote de vesículas desde preparaciones de Golgi incubadas con citosol y ATP. El mecanismo general es complejo, tiene su propia **nomenclatura** (cuadro 46-9), e incluye diversas proteínas citosólicas y de membrana, GTP, ATP, y factores accesorios. El **brote**, la **atadura**, el **acoplamiento**, y la **fusión de membrana** son pasos clave en los ciclos de vida de vesículas con Sar, ARF, y las Rab GTPasas (véase más adelante) que actúan como **conmutadores moleculares**.

Hay pasos generales comunes en la formación de vesículas de transporte, la dirección de vesículas y la fusión con una membrana blanco, independientemente de la membrana a partir de la cual se forma la vesícula, o su destino intracelular. La naturaleza de las proteínas de cubierta, GTPasas y factores de dirección difiere dependiendo de a partir de dónde se forma la vesícula, y su destino final. El transporte desde el ER hacia el aparato de Golgi es el ejemplo mejor estudiado, y se usará para ilustrar estos pasos. El **transporte vesicular anterógrado** desde el ER hacia el aparato de Golgi

CUADRO 46-9 Algunos factores involucrados en la formación de vesículas no cubiertas por clatrina y su transporte

• ARF: factor de ribosilación de ADP, una GTPasa involucrada en la formación de vesículas COPI y cubiertas por clatrina.
• Proteínas de cubierta: una familia de proteínas que se encuentra en vesículas cubiertas. Diferentes vesículas de transporte tienen diferentes totales de proteínas de cubierta.
• GTP-γ-S: un análogo no hidrolizable de GTP, usado para probar la participación de GTP en procesos bioquímicos.
• NEM: *N*-etilmaleimida, una sustancia química que alquila grupos sulfhidrilo y desactiva NSF.
• NSF: factor sensible a NEM, una ATPasa.
• Sar1: una GTPasa que desempeña una función clave en el montaje de vesículas COPII.
• Sec 12: un factor de intercambio de nucleótido guanina (GERF) que interconvierte Sar1·GDP y Sar1·GTP.
• α-SNAP: proteína de fijación a NSF soluble. Junto con el NSF, esta proteína participa en la disociación de complejos SNARE.
• SNARE: receptor de SNAP. Las SNARE son moléculas clave en la fusión de vesículas con membranas aceptoras.
• t-SNARE: SNARE blanco.
• v-SNARE: SNARE vesícula.
• Proteínas Rab: una familia de proteínas relacionadas con Ras (GTPasas monoméricas) observada por vez primera en el cerebro de rata. Son activas cuando el GTP está unido. Diferentes moléculas Rab acoplan distintas vesículas a membranas aceptoras.
• Proteínas efectoras Rab: una familia de proteínas que interactúa con moléculas Rab; algunas actúan para atar vesículas a membranas aceptoras.

comprende **vesículas COPII**, y puede considerarse que el proceso sucede en ocho pasos (fig. 46-10). El concepto básico es que cada vesícula de transporte lleva una carga específica y una o más proteínas **v-SNARE** que controlan la dirección. Cada membrana blanco porta una o más **proteínas t-SNARE** complementarias con las cuales interactúa la primera, y median la fusión de vesícula-membrana dependiente de proteína SNARE. Las **proteínas Rab** también ayudan a dirigir las vesículas hacia membranas específicas, y están involucradas en la atadura, antes del acoplamiento de vesícula en una membrana blanco.

Paso 1: El **brote** se inicia cuando **Sar1** es activada por la unión a **GTP**, que se intercambia por GDP por medio de la acción de **Sec12**. Esto suscita un cambio conformacional en Sar1·GTP, y produce incrustación del mismo en la membrana del ER para formar un punto focal para el ensamble de vesícula.

Paso 2: Diversas **proteínas de cubierta** se unen a **Sar1**·GTP. A su vez, las proteínas de carga de membrana se unen a las proteínas de cubierta y proteínas de carga solubles dentro de vesículas unidas a regiones receptoras de la primera. Otras proteínas de cubierta se montan para **completar la formación del brote**. Las proteínas de cubierta promueven el brote, contribuyen a la curvatura de brotes, y ayudan también a clasificar proteínas.

Paso 3: El **brote se desprende**, lo que completa la formación de la vesícula cubierta. La curvatura de la membrana del ER y las interacciones entre una proteína y otra, y entre proteína y lípido en el brote, facilitan el desprendimiento desde sitios de salida del ER.

Paso 4: El **desmontaje de cubierta** (que involucra **disociación** de **Sar1** y la **protección** de las proteínas de cubierta) sigue a la **hidrólisis de GTP unido hacia GDP** por Sar1, lo cual es promovido por una proteína de cubierta específica. De esta manera, la Sar1 desempeña funciones clave tanto en el ensamble como en la disociación de las proteínas de cubierta. La eliminación de la cubierta es necesaria para que ocurra fusión.

Paso 5: La **dirección de vesícula** se logra mediante fijación de moléculas **Rab** a vesículas. Las moléculas de Rab·GDP en el citosol se convierten en moléculas Rab·GTP por medio de un factor de intercambio de nucleótido guanina específico, y éstos se fijan a las vesículas. Las moléculas de Rab·GTP después interactúan con **proteínas efectoras Rab** en membranas para **atar** la vesícula a las membranas.

Paso 6: **v-SNARE forman pares con t-SNARE cognadas** en la membrana blanco para **acoplar** las vesículas e iniciar fusión. En general una v-SNARE en la vesícula forma pares con tres t-SNARE en la membrana aceptora para formar un **haz de cuatro hélices estrecho**.

Paso 7: La **fusión** de la vesícula con la membrana aceptora sucede una vez que las v-SNARE y t-SNARE están estrechamente alineadas. Luego de fusión de vesícula y liberación del contenido, el GTP se hidroliza hacia GDP, y las moléculas de Rab·GDP se liberan hacia el citosol. Cuando una SNARE sobre una membrana interactúa con una SNARE sobre otra membrana, enlazando las dos membranas, esto se llama un complejo trans-SNARE o un alfiler SNARE. Las interacciones de SNARE en la misma membrana forman un complejo cis-SNARE. Para **disociar el fascículo de cuatro hélices** entre las v-SNARE y t-SNARE, de modo que puedan volver a emplearse, se necesitan dos proteínas adicionales. Éstas son una **ATPasa** (NSF) y **α-SNAP**. La NSF hidroliza ATP, y la energía liberada disocia el fascículo de cuatro hélices, lo que hace que las proteínas SNARE estén disponibles para otra ronda de fusión de membrana.

Paso 8: Ciertos componentes se **reciclan** (p. ej., Rab, posiblemente v-SNARE).

En el transcurso del ciclo anterior, las SNARE, proteínas de atadura, Rab y otras proteínas **colaboran** para suministrar una vesícula y su contenido al sitio apropiado.

Las vesículas COPI, COPII, y cubiertas por clatrina se han estudiado más

Los puntos que siguen aclaran y expanden la sección previa.

1. Como se indica en el cuadro 46-8, hay **varios tipos de vesículas**. Quizá quedan por descubrir otros tipos de vesículas. Aquí los autores se enfocan principalmente en vesículas COPII, COPI y cubiertas por clatrina. Cada uno de estos tipos tiene una totalidad diferente de proteínas en su cubierta. Los detalles del montaje para vesículas COPI y cubiertas por clatrina son un poco diferentes de los antes descritos. Por ejemplo, **Sar1** es la proteína involucrada en el paso 1 de la formación de vesículas COPII, mientras que **ARF** está involucrada en la formación de vesículas COPI y cubiertas por clatrina. Como quiera que sea, los principios que se refieren al montaje de estos tipos diferentes en general son similares.

2. Respecto a la **selección** de moléculas de carga por vesículas, ésta parece ser principalmente una **función de las proteínas de cubierta** de vesículas. Las **moléculas de carga** mediante sus señales de clasificación pueden interactuar con proteínas de cubierta **de manera directa** o por medio de **proteínas intermediarias** que se fijan a

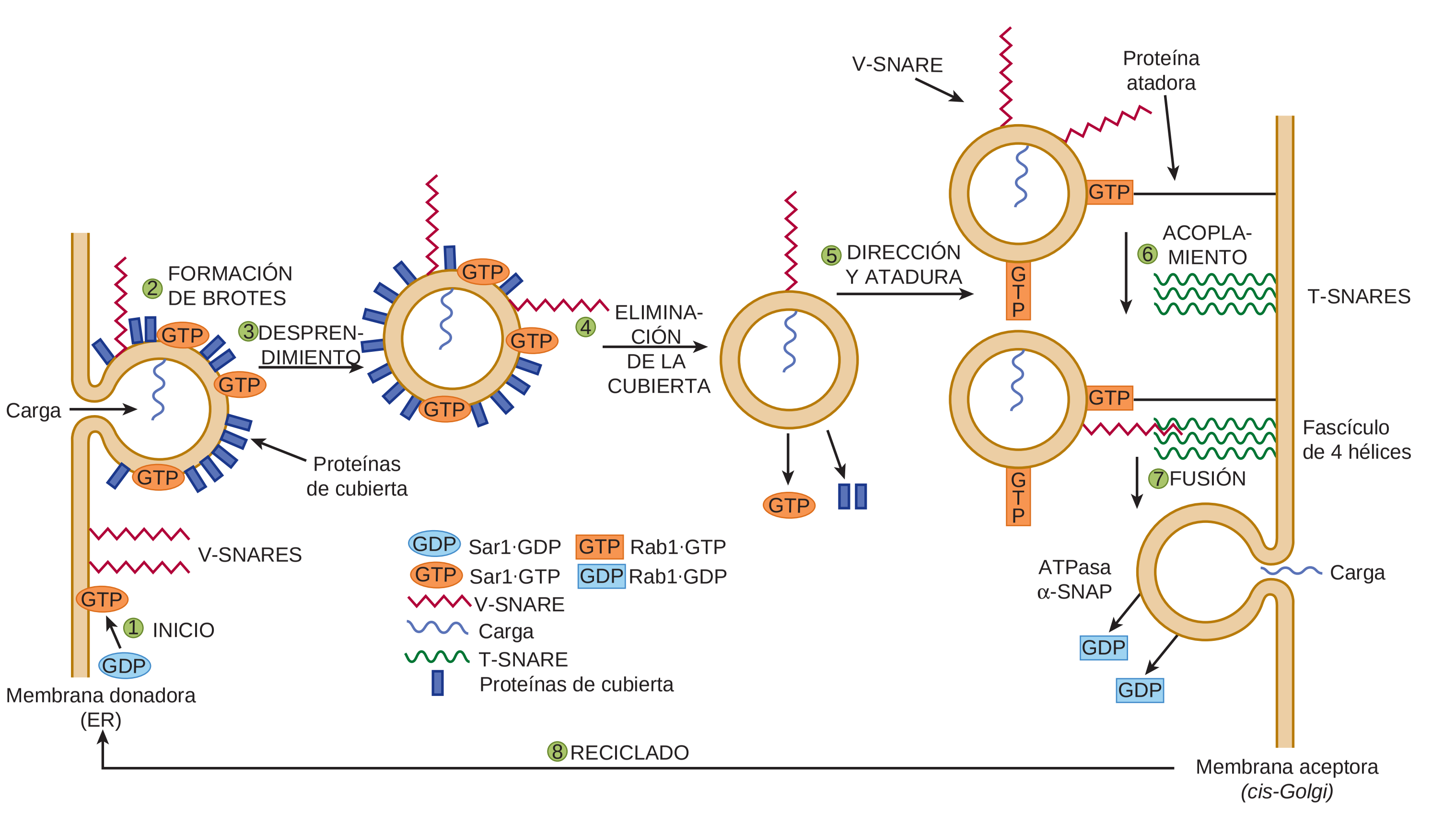


FIGURA 46-10 Modelo de los pasos en una ronda de transporte anterógrado que involucra vesículas COPII. El ciclo empieza en el cuadrante inferior izquierdo de la figura, donde dos moléculas de Sar1 están representadas como óvalos pequeños que contienen GDP. Los pasos en el ciclo se describen en el texto. Los diversos componentes se describen brevemente en el cuadro 46-7. En esta figura no se abordan las funciones de proteínas efectoras Rab y Rab (véase el texto) en el proceso general. (Adaptada, con autorización, de Rothman JE: Mechanisms of intracellular protein transport. Nature 1994;372:55. Cortesía de E Degen.)

proteínas de cubierta, y después quedan encerradas en sus vesículas apropiadas. Se han identificado varias **secuencias de señal** sobre moléculas de carga (cuadro 46-1). Por ejemplo, las secuencias KDEL dirigen ciertas proteínas residentes en el ER en flujo retrógrado hacia el ER en vesículas COPI. Las secuencias diacídicas (p. ej., Asp-X-Glu) y las secuencias hidrofóbicas cortas sobre proteínas de membrana participan en interacciones con proteínas de cubierta de vesículas COPII.

Las proteínas en las áreas **apical** o **basolateral** de las membranas plasmáticas de células epiteliales polarizadas pueden transportarse hacia estos sitios en **vesículas de transporte** que brotan desde la TGN. Diferentes proteínas Rab probablemente dirigen algunas vesículas hacia regiones apicales, y otras hacia regiones basolaterales. En ciertas células, las proteínas se dirigen primero hacia la membrana basolateral, después pasan por endocitosis y se transportan a través de la célula mediante **transcitosis** hacia la región apical. Aún otro mecanismo para clasificar proteínas hacia la región apical (o en algunos casos hacia la región basolateral) involucra el **ancla glicosilfosfatidilinositol (GPI)** descrita en el capítulo 47. Esta estructura también suele estar presente en **balsas de lípido** (cap. 40).

No todas las moléculas de carga pueden tener una señal de clasificación. Algunas proteínas secretorias muy abundantes viajan hacia diversos destinos celulares en vesículas de transporte por medio de **flujo de masa**; es decir, entran en vesículas de transporte en la misma concentración que la que muestran en el organelo. No se conoce con claridad la extensión precisa del flujo de masa, aunque parece ser que casi todas las proteínas se clasifican de modo activo (se concentran) hacia vesículas de transporte, y sólo un grupo selecto de proteínas de carga usa el flujo de masa.

3. Una vez que las proteínas en las vías secretorias llegan a *cis*-Golgi desde el ER en vesículas, pueden viajar a través del GA hacia el *trans*-Golgi **en vesículas**, o mediante un proceso denominado **maduración de las cisternas**, o tal vez en algunos casos por medio de **difusión simple**. Una opinión anterior era que el GA es en esencia un organelo estático, que permite el flujo vesicular desde una cisterna estática hacia la siguiente. De cualquier manera, ahora hay evidencia que apoya la opinión de que las cisternas se mueven y se transforman en otra (es decir, maduración de las cisternas). En este modelo, elementos vesiculares del ER se fusionan entre sí para ayudar a formar el *cis*-Golgi, que a su vez puede avanzar para convertirse en el Golgi medial, etc. Las vesículas COPI regresan enzimas de Golgi (p. ej., glicosiltransferasas) desde cisternas distales del GA hacia cisternas más proximales (p. ej., *cis*).

4. Las vesículas se mueven a través de las células a lo largo de **microtúbulos** o de **filamentos de actina**.

5. El metabolito de hongo **brefeldina A evita que el GTP se una a la ARF** y, así, inhibe la formación de vesículas COPI. En su presencia, el aparato de Golgi parece **colapsarse hacia el ER**. Quizá haga esto al inhibir el intercambiador de nucleótido guanina involucrado en la formación de vesículas COPI. De este modo, la brefeldina A ha resultado ser un útil recurso para examinar algunos aspectos de la estructura y función del aparato de Golgi.

6. El **GTP-γ-S** (un análogo no hidrolizable de GTP que a menudo se usa en investigaciones de la función del GTP en procesos bioquímicos) **bloquea el desmontaje de la cubierta** desde vesículas cubiertas, lo que da pie a acumulación de estas últimas; ello facilita su estudio.

7. Como se mencionó, una familia de proteínas parecidas a Ras, llamada la **familia de proteína Rab**, se requiere en varios pasos del transporte de proteína intracelular, y en la secreción y la endocitosis reguladas. (Las proteínas Ras participan en la emisión de señales celulares mediante receptores de tirosina cinasas). Al igual que las proteínas Ras, las Rab son el **GTPasas monoméricas pequeñas** que se fijan a las caras citosólicas de membranas (por medio de anclas de lípido **geranilgeranil**). Se **fijan** en el **estado unido a GTP** a la vesícula que está brotando, y están presentes también sobre membranas aceptoras. Las proteínas Rab interactúan con **proteínas efectoras Rab**, que tienen diversas funciones, como la participación en la atadura y en la fusión de membrana.

8. La fusión de **vesículas sinápticas** con la membrana plasmática de **neuronas** involucra una serie de eventos similares a los antes descritos. Por ejemplo, una v-SNARE se designa **sinaptobrevina**, y dos t-SNARE se designan **sintaxina** y **SNAP 25** (proteína de 25 kDa asociada con el sinaptosoma). La **toxina botulínica B** es una de las toxinas más letales conocidas, y la causa más seria de intoxicación por alimentos. Un componente de esta toxina es una **proteasa** que parece **dividir únicamente sinaptobrevina**, lo que de esta manera **inhibe la liberación de acetilcolina** en la unión neuromuscular, y posiblemente resulta letal, dependiendo de la dosis tomada.

9. Aunque el modelo anterior se refiere a **vesículas no cubiertas por clatrina**, parece probable que muchos de los eventos antes descritos se aplican, por lo menos en principio, a vesículas cubiertas por clatrina.

10. Algunas proteínas quedan sujetas además a **procesamiento adicional mediante proteólisis**, mientras están dentro de vesículas de transporte o secretorias. Por ejemplo, los hepatocitos sintetizan la **albúmina** como **preproalbúmina** (cap. 50). Su péptido señal se elimina, lo que la convierte en **proalbúmina**. A su vez, la proalbúmina, mientras está dentro de vesículas de transporte, se convierte en **albúmina** por medio de la acción de la **furina** (fig. 46-11). Esta enzima divide un hexapéptido desde la proalbúmina inmediatamente C-terminal a un sitio aminoácido dibásico (ArgArg). La albúmina madura resultante se secreta hacia el plasma. Las hormonas como la **insulina** (cap. 41) están sujetas a divisiones proteolíticas similares mientras están dentro de vesículas secretorias.

EL MONTAJE DE MEMBRANAS ES COMPLEJO

Hay muchas membranas celulares, cada una de las cuales tiene sus propias características específicas. No se dispone de un esquema satisfactorio que describa el montaje de alguna de estas membranas.

$$\text{Preproalbúmina} \xrightarrow{\text{Señal peptidasa}} \text{Péptido señal + Proalbúmina} \xrightarrow{\text{Furina}} \text{Hexapéptido + Albúmina}$$

FIGURA 46-11 División de preproalbúmina hacia proalbúmina y de esta última hacia albúmina. La furina divide la proalbúmina en el extremo C-terminal de un dipéptido básico (ArgArg).

Ya se comentó el modo en que diversas proteínas inicialmente se insertan en la membrana del ER. También se ha descrito el transporte de proteínas, incluso proteínas de membrana, hacia varias partes de la célula dentro de vesículas. Quedan por abordarse algunos puntos generales en cuanto al montaje de membrana.

La asimetría tanto de proteínas como de lípidos se mantiene durante el montaje de membrana

Las vesículas que se forman a partir de membranas del ER y del aparato de Golgi, sea de manera natural o desprendidas mediante homogeneización, muestran **asimetrías transversas** tanto de lípido como de proteína. Estas **asimetrías se mantienen** en el transcurso de la fusión de vesículas de transporte con la membrana plasmática. El **interior** de las vesículas después de fusión se convierte en el **exterior de la membrana plasmática**, y el lado citoplásmico de las vesículas persiste como el lado citoplásmico de la membrana (fig. 46-12). Puesto que la asimetría transversa de las membranas ya existe en las vesículas del ER bastante antes de que se fusionen con la membrana plasmática, un problema importante del montaje de membrana estriba en entender de qué modo las proteínas integrales se insertan en la bicapa lipídica del ER. Este problema se abordó antes en este capítulo.

Los **fosfolípidos** son la principal clase de lípidos en las membranas. Las enzimas de las cuales depende la síntesis de fosfolípidos residen en la superficie citoplásmica de las cisternas del ER. Dado que los fosfolípidos se sintetizan en este sitio, probablemente se automonten hacia capas biomoleculares estables desde el punto de vista termodinámico, lo que expande la membrana y tal vez promueve el desprendimiento de las denominadas vesículas de lípido desde ella. Se ha propuesto que estas vesículas viajan hacia otros sitios, y donan sus lípidos a otras membranas; no obstante, se sabe poco acerca de este tema. Como se indicó, se han demostrado proteínas citosólicas que captan fosfolípidos de una membrana y los liberan en otra (esto es, **proteínas de intercambio de fosfolípido**); probablemente participan al contribuir a la composición lipídica específica de diversas membranas.

Cabe hacer notar que difieren las **composiciones lipídicas** del ER, el aparato de Golgi y la membrana plasmática; las membranas de estos dos últimos contienen **cantidades más altas de colesterol**, **esfingomielinas y glucoesfingolípidos**, y **menos fosfoglicéridos** que el ER. Los esfingolípidos se aglomeran de manera más densa en membranas que los fosfoglicéridos. Estas diferencias afectan las estructuras y funciones de las membranas. Por ejemplo, el **grosor de la bicapa** del GA y la PM es mayor que el del ER, lo cual afecta las proteínas transmembrana particulares que se encuentran en estos organelos. Asimismo, se cree que las **balsas de lípido** (véase antes) se forman en el GA.

Los lípidos y las proteínas pasan por recambio a diferentes índices en distintas membranas

Se ha mostrado que la vida media de los lípidos de las membranas del ER de hígado de rata en general es más breve que la de sus proteínas, de modo que los **índices de recambio de lípidos y proteínas son independientes**. En realidad, se ha encontrado que diferentes lípidos tienen distintas vidas medias. Más aún, la vida media de las proteínas de estas membranas varía bastante; algunas muestran vida media breve (de horas) y otras, prolongada (de días). De esta manera, lípidos y proteínas individuales de las membranas del ER parecen insertarse en ellas de modo relativamente independiente; ocurre esto para muchas otras membranas.

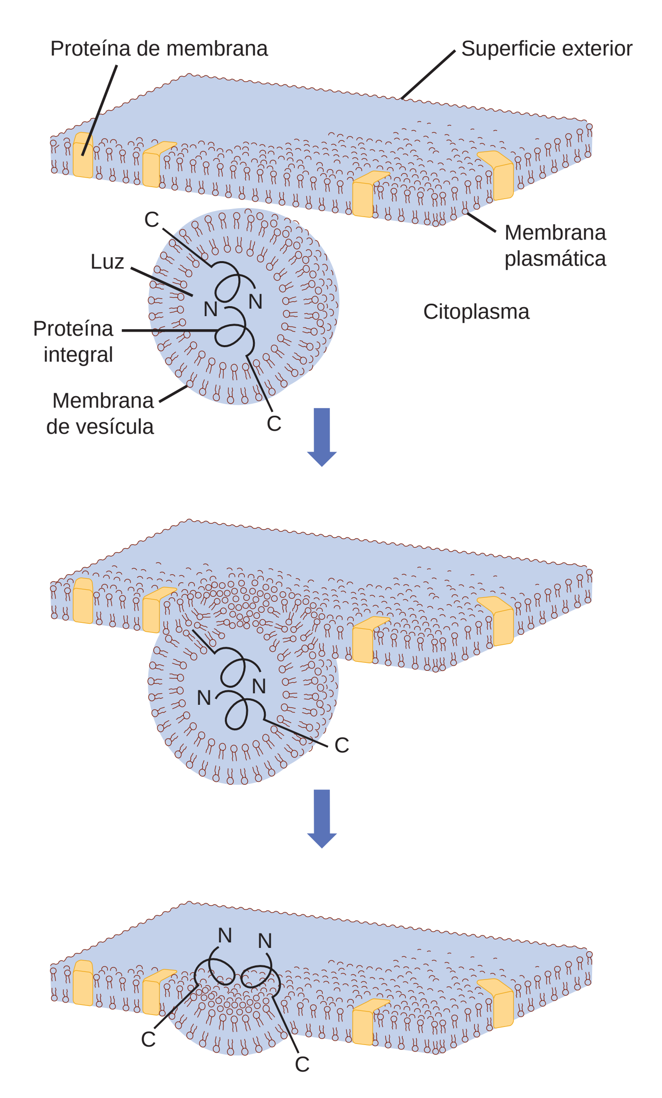


FIGURA 46-12 La fusión de una vesícula con la membrana plasmática preserva la orientación de cualesquiera proteínas integrales incrustadas en la bicapa de la vesícula. Inicialmente, el amino terminal de la proteína mira hacia la luz, o la cavidad interna, de una vesícula de ese tipo. Luego de la fusión, el amino terminal está en la superficie exterior de la membrana plasmática. El hecho de que la orientación de la proteína no se ha revertido puede percibirse al notar que el otro extremo de la molécula, el carboxilo terminal, siempre está inmerso en el citoplasma. La luz de una vesícula y el exterior de la célula son equivalentes en el aspecto topológico. (Redibujada y modificada, con autorización, de Lodish HF, Rothman JE: The assembly of cell membranes. Sci Am [Jan] 1979;240:43.)

Así, la biogénesis de membranas es un proceso complejo respecto al cual queda mucho por aprender. Una indicación de la complejidad involucrada es considerar el número de **modificaciones postraduccionales** a las cuales las proteínas de membrana

CUADRO 46-10 Algunas características importantes del montaje de membrana

- Los lípidos y proteínas se insertan de manera independiente en membranas.
- Lípidos y proteínas de membrana individuales muestran recambio de modo independiente y a índices diferentes.
- Las secuencias topogénicas (p. ej., señal [amino terminal o interna] y cese de transferencia) son importantes en la determinación de la inserción y eliminación de las proteínas en membranas.
- Proteínas de membrana dentro de vesículas de transporte brotan del retículo endoplásmico en su camino hacia el aparato de Golgi; la clasificación final de muchas proteínas de membrana ocurre en la red *trans*-Golgi.
- Secuencias de clasificación específicas guían proteínas hacia organelos particulares como lisosomas, peroxisomas y mitocondrias.

pueden estar sujetas antes de alcanzar su estado maduro. Éstas incluyen (y esta lista es incompleta) formación de disulfuro, proteólisis, montaje hacia multímeros, glicosilación, adición de un ancla glicofosfatidilinositol (GPI), sulfación sobre porciones tirosina o carbohidrato, fosforilación, acetilación y prenilación. Sin embargo, se ha hecho progreso importante; en el cuadro 46-10 se resumen algunas de las principales características del montaje de membrana que han surgido hasta la fecha.

Diversos trastornos se producen por mutaciones en genes que codifican para proteínas involucradas en el transporte intracelular

Algunos trastornos que reflejan función **peroxisómica** anormal y anormalidades de la síntesis de proteína en el **ER**, y de la síntesis de **proteínas lisosómicas** se listaron antes en este capítulo (cuadros 46-3 y 46-7, respectivamente). Se han informado muchas otras mutaciones que afectan el transporte de proteínas intracelular hacia varios organelos, pero no se incluyen aquí. La elucidación de las causas de estos diversos **trastornos conformacionales** ha contribuido de manera significativa a la comprensión de la **patología molecular**. Además de la posibilidad de **terapia génica**, se espera que los intentos por restituir al menos cierto grado de plegado normal a proteínas plegadas de modo erróneo por medio de la **administración a los individuos afectados de moléculas pequeñas** que interactúen de manera específica con esas proteínas tendrá un beneficio terapéutico. Ésta es un área de investigación activa.

RESUMEN

- Muchas proteínas se dirigen hacia su destino mediante secuencias de señal. Una decisión de clasificación importante se toma cuando las proteínas se particionan entre polirribosomas citosólicos y unidos a membrana en virtud de la ausencia o presencia de un péptido señal.
- Se describen las vías de importación de proteínas hacia mitocondrias, núcleos, peroxisomas y el retículo endoplásmico.
- Muchas proteínas sintetizadas en polirribosomas unidos a membrana proceden hacia el aparato de Golgi y la membrana plasmática en vesículas de transporte.
- Muchas reacciones de glicosilación suceden en compartimientos del aparato de Golgi, y las proteínas se clasifican más en la red *trans*-Golgi.
- Se presenta la función de las proteínas chaperón en el plegado de proteínas y se describe la respuesta a proteína desdoblada.
- Hay una breve descripción de la degradación relacionada con el retículo endoplásmico (ERAD), y se muestra la función clave de la ubiquitina en la degradación de proteína.
- Se resume un modelo que describe el brote y la fijación de vesículas de transporte a una membrana blanco.
- Ciertas proteínas (p. ej., precursoras de albúmina y de insulina) están sujetas a proteólisis mientras están dentro de vesículas de transporte, lo que da por resultado las proteínas maduras.
- GTPasas pequeñas (p. ej., Ran, Rab) y factores de intercambio de nucleótido guanina desempeñan funciones clave en muchos aspectos del tráfico intracelular.
- Se comenta brevemente el complejo proceso de montaje de membrana. La asimetría tanto de lípidos como de proteínas se mantiene durante el montaje de membrana.
- Se ha mostrado que muchos trastornos se deben a mutaciones en genes que afectan el plegado de diversas proteínas. Estas enfermedades suelen llamarse enfermedades conformacionales. Además de la terapia génica, el desarrollo de moléculas pequeñas que interactúan con proteínas plegadas de modo erróneo y ayudan a restituir por lo menos parte de su función es una importante área de investigación.

REFERENCIAS

Alberts B et al: *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. Garland Science, 2008. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).

Alder NN, Johnson AE: Cotranslational membrane protein biogenesis at the endoplasmic reticulum. J Biol Chem 2004;279:22787.

Bonifacino JS, Glick BS: The mechanisms of vesicle budding and fusion. Cell 2004;116:153.

Dalbey RE, von Heijne G (editors): *Protein Targeting, Transport and Translocation.* Academic Press, 2002.

Ellgaard L, Helenius A: Quality control in the endoplasmic reticulum. Nat Rev Mol Cell Biol 2003;4:181.

Koehler CM: New developments in mitochondrial assembly. Annu Rev Cell Dev Biol 2004;20:309.

Lai E, Teodoro T, Volchuk A: Endoplasmic reticulum stress: Signaling the unfolded protein response. Physiology 2007;22:193.

Lee MCS et al: Bi-directional protein transport between the ER and Golgi. Annu Rev Cell Dev Biol 2004;20:87.

Lodish H et al: *Molecular Cell Biology*. 6th ed. WH Freeman & Co., 2008. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).

Owen DJ, Collins BM, Evans PR: Adaptors for clathrin coats: structure and function. Annu Rev Cell Dev Biol 2004; 20:153.

Pelham HRB: Maturation of Golgi cisternae directly observed. Trends Biochem Sci 2006;31:601.

Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J: *Cell Biology*. 2nd ed. WB Saunders, 2007. (An excellent textbook of cell biology, with comprehensive coverage of trafficking and sorting).
Romisch K: Endoplasmic-reticulum–associated degradation. Annu Rev Cell Dev Biol 2005;21:435.
Schroder M, Kaufman RJ: The mammalian unfolded protein response. Annu Rev Biochem 2005;74:739.
Trombetta ES, Parodi AJ: Quality control and protein folding in the secretory pathway. Annu Rev Cell Dev Biol 2003;19:649.
van Meer G, Sprong H: Membrane lipids and vesicular traffic. Curr Opin Cell Biol 2004;16:373.
Wiedemann N, Frazier AE, Pfanner N: The protein import machinery of mitochondria. J Biol Chem 2004; 279:14473.
Zaidiu SK et al: Intranuclear trafficking: organization and assembly of regulatory machinery for combinatorial biological control. J Biol Chem 2004;279:43363.

CAPÍTULO

47

Glucoproteínas

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La **glucobiología** es el estudio de las funciones de los azúcares en la salud y la enfermedad. El **glucoma** es la totalidad de azúcares, sea libres o presentes en moléculas más complejas, de un organismo. La **glucómica**, un término análogo a la genómica y proteómica, es el estudio integral de los glucomas, incluso los aspectos genético, fisiológico, patológico y otros.

Una clase importante de moléculas incluidas en el glucoma son las **glucoproteínas**, proteínas que contienen cadenas de oligosacáridos (glucanos) unidos de modo covalente a sus esqueletos polipeptídicos. Se ha estimado que alrededor de 50% de las proteínas eucarióticas tiene azúcares fijos, de manera que la **glucosilación** (fijación enzimática de azúcares) es la modificación postraduccional más frecuente de las proteínas. También puede haber fijación no enzimática de azúcares a proteínas, lo cual se denomina **glucación**. Un proceso puede tener varias consecuencias patológicas (p. ej., en la diabetes mellitus mal controlada). Las glucoproteínas son una clase de **glucoconjugado** o **carbohidrato complejo**, términos equivalentes que se usan para denotar moléculas que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente a proteína (para formar glucoproteínas o proteoglucanos) o lípido (para formar glucolípidos). (Los **proteoglucanos** se comentan en el capítulo 48, y los **glucolípidos** en el 15.) Casi todas las **proteínas plasmáticas** de seres humanos —con la notable excepción de la albúmina— son glucoproteínas. Muchas **proteínas de membranas celulares** (cap. 40) contienen cantidades considerables de carbohidrato. Varias de las **sustancias de grupo sanguíneo** son glucoproteínas, mientras que otras son glucoesfingolípidos. Ciertas **hormonas** (p. ej., gonadotropina coriónica) son glucoproteínas. Un problema importante en el cáncer son las **metástasis**, el fenómeno por el cual las células cancerosas abandonan su tejido de origen (p. ej., la mama), migran por medio del torrente sanguíneo hacia algún sitio distante en el organismo (p. ej., el cerebro), y crecen ahí de una manera no regulada, con resultados desastrosos para el paciente afectado. Muchos investigadores del cáncer creen que las alteraciones de las estructuras de las glucoproteínas y otros glucoconjugados sobre la superficie de células cancerosas tienen importancia en el fenómeno de metástasis.

LAS GLUCOPROTEÍNAS SON COMUNES Y DESEMPEÑAN MUCHAS FUNCIONES

Las glucoproteínas se encuentran en casi todos los organismos, desde bacterias hasta seres humanos. Muchos virus también contienen glucoproteínas, algunas de las cuales se han investigado mucho, debido en parte a que suelen desempeñar funciones clave en la fijación de virus a células (p. ej., VIH-1 y virus de la influenza A). Muchas proteínas con diversas funciones son glucoproteínas (cuadro 47-1); su contenido de carbohidrato varía desde 1% hasta más de 85% por peso.

Se han realizado muchos estudios en un intento por definir los papeles precisos que las cadenas de oligosacárido desempeñan en las funciones de glucoproteínas. El cuadro 47-2 resume los resultados de esos estudios. Algunas de las funciones listadas se encuentran bien establecidas; otras aún están en investigación.

LAS CADENAS DE OLIGOSACÁRIDO CODIFICAN INFORMACIÓN BIOLÓGICA

Un enorme número de enlaces glucosídicos se puede generar entre azúcares. Por ejemplo, tres hexosas diferentes pueden estar enlazadas entre sí para formar más de 1 000 trisacáridos diferentes. Las conformaciones de los azúcares en las cadenas de oligosacárido varían según sus enlaces y proximidad a otras moléculas con las cuales los oligosacáridos pueden interactuar. Ahora se encuentra establecido que ciertas cadenas de oligosacárido codifican **información biológica** y que esto depende de los azúcares que las constituyen, sus secuencias y enlaces. Por ejemplo, los residuos manosa 6-fosfato dirigen enzimas lisosómicas recién sintetizadas a ese organelo (véase más adelante). La información biológica que contienen los azúcares se expresa mediante interacciones entre azúcares específicos, sean libres o en glucoconjugados, y proteínas (como lectinas; véase más adelante) u otras moléculas. Estas interacciones conducen a cambios de la actividad celular. Así, descifrar el llamado **"código de azúcar de la vida"** (uno de los principales objetivos de la glucómica) conlleva elucidar todas las interacciones en las cuales participan los azúcares y las moléculas que contienen azúcar, y los resultados de estas interacciones sobre la conducta celular. Al considerar la diversidad de los glucanos que se encuentran en las células, es evidente que se trata de una tarea difícil.

SE DISPONE DE TÉCNICAS PARA DETECCIÓN, PURIFICACIÓN, ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y SÍNTESIS DE GLUCOPROTEÍNAS

El cuadro 47-3 lista diversos métodos empleados en la detección, purificación y análisis estructural de glucoproteínas.

CUADRO 47-1 Algunas funciones desempeñadas por glucoproteínas

Función	Glucoproteínas
Molécula estructural	Colágenos
Agente lubricante y protector	Mucinas
Molécula de transporte	Transferrina, ceruloplasmina
Molécula inmunitaria	Inmunoglobulinas, antígenos de histocompatibilidad
Hormona	Gonadotropina coriónica, hormona estimulante de la tiroides (TSH)
Enzima	Diversas, p. ej., fosfatasa alcalina
Sitio de reconocimiento de fijación celular	Varias proteínas involucradas en interacciones entre una célula y otra (p. ej., espermatozoide-oocito), entre virus y célula, entre bacteria y célula, y entre hormona y célula
Anticongelante	Ciertas proteínas plasmáticas de peces de agua fría
Interactúa con carbohidratos específicos	Lectinas, selectinas (lectinas de adherencia celular), anticuerpos
Receptor	Diversas proteínas involucradas en la acción de hormonas y medicamentos
Afecta el plegado de ciertas proteínas	Calnexina, calreticulina
Regulación del desarrollo	Notch y sus análogos, proteínas clave en el desarrollo
Hemostasia (y trombosis)	Glucoproteínas específicas sobre membranas de superficie de plaquetas

CUADRO 47-2 Algunas funciones de las cadenas de oligosacáridos de glucoproteínas

- Modulan propiedades físico-químicas, p. ej., solubilidad, viscosidad, carga, conformación, desnaturalización, y sitios de unión para diversas moléculas, bacterias, virus y algunos parásitos
- Protegen contra proteólisis, desde dentro y fuera de la célula
- Afectan el procesamiento proteolítico de proteínas precursoras hacia productos de menor tamaño
- Participan en la actividad biológica, p. ej., de gonadotropina coriónica humana (hCG)
- Afectan la inserción hacia membranas, la migración intracelular, la clasificación y la secreción
- Afectan el desarrollo y la diferenciación embrionarios
- Pueden afectar sitios de metástasis seleccionados por células cancerosas

Fuente: Adaptado de Schachter H: Biosynthetic controls that determine the branching and heterogeneity of protein-bound oligosaccharides. Biochem Cell Biol 1986;64:163.

Los métodos convencionales usados para purificar proteínas y enzimas también son aplicables a la purificación de glucoproteínas. Una vez que una glucoproteína se ha purificado, el uso de **espectrometría de masa** y **espectroscopia con resonancia magnética nuclear (NMR) de alta resolución** a menudo permite identificar las

CUADRO 47-3 Algunos métodos importantes empleados para estudiar glucoproteínas

Método	Uso
Reactivo ácido peryódico de Schiff	Detecta glucoproteínas como bandas de color rosado luego de separación electroforética.
Incubación de células cultivadas con un azúcar radiactivo	Lleva a la detección de glucoproteínas como bandas radiactivas después de separación electroforética.
Tratamiento con endoglucosidasa o exoglucosidasa o fosfolipasas	Cambios resultantes de la migración electroforética ayudan a distinguir entre proteínas con enlaces N-glucano, O-glucano, o GPI, y entre N-glucanos con alto contenido de manosa y complejos.
Cromatografía en columna de sefarosa-lectina	Para purificar glucoproteínas o glucopéptidos que se unen a la lectina particular usada.
Análisis composicional después de hidrólisis ácida	Identifica azúcares que la glucoproteína contiene y su estoiquiometría.
Espectrometría de masas	Proporciona información sobre masa molecular, composición, secuencia y en ocasiones ramificación de una cadena de glucano.
Espectroscopia con NMR	Identificar azúcares específicos, su secuencia, enlaces y la naturaleza anomérica de enlaces glucosídicos.
Análisis de metilación (enlace)	Determinar enlaces entre azúcares.
Secuenciación de aminoácido o cDNA.	Determinación de la secuencia de aminoácidos.

estructuras de sus cadenas de glucano. El análisis de glucoproteínas puede complicarse por el hecho de que suelen existir como **glucoformas**; éstas son proteínas con secuencias de aminoácido idénticas pero composiciones de oligosacárido un poco diferentes. Aun cuando en este capítulo no se recalcan los detalles de enlace, es crucial apreciar que las naturalezas exactas de los enlaces entre los azúcares de glucoproteínas tienen importancia fundamental en la determinación de las estructuras y funciones de estas moléculas.

También se están haciendo avances impresionantes en la **química sintética**, lo que permite la síntesis de glucanos complejos que pueden probarse respecto a actividad biológica y farmacológica. Además, se han creado métodos en los que se emplean organismos simples, como levaduras, para secretar glucoproteínas humanas de valor terapéutico (p. ej., eritropoyetina) hacia su medio circundante.

EN LAS GLUCOPROTEÍNAS HUMANAS PREDOMINAN OCHO AZÚCARES

Hay alrededor de 200 monosacáridos en la naturaleza; sin embargo, sólo ocho se encuentran a menudo en las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas (cuadro 47-4). Casi todos estos azúcares se describieron en el capítulo 14. El ácido *N*-acetilneuramínico (NeuAc) por lo general se encuentra en las terminales de cadenas

CUADRO 47-4 Los principales azúcares que se encuentran en glucoproteínas de ser humano[1]

Azúcar	Tipo	Abreviatura	Azúcar nucleótido	Comentarios
Galactosa	Hexosa	Gal	UDP-Gal	Suele encontrarse en posición subterminal a NeuAc en glucoproteínas N-enlazadas. También se encuentra en el trisacárido central de proteoglucanos.
Glucosa	Hexosa	Glc	UDP-Glc	Presente durante la biosíntesis de glucoproteínas N-enlazadas, pero por lo general no presente en glucoproteínas maduras. Presente en algunos factores de la coagulación.
Manosa	Hexosa	Man	GDP-Man	Azúcar común en glucoproteínas N-enlazadas.
Ácido *N*-acetilneuramínico	Ácido siálico (9 átomos de C)	NeuAc	CMP-NeuAc	A menudo el azúcar terminal en glucoproteínas tanto N- como O-enlazadas. También se encuentran otros tipos de ácido siálico, pero NeuAc es la principal especie que se halla en seres humanos. Los grupos acetilo también pueden encontrarse como especies O-acetilo, así como N-acetilo.
Fucosa	Desoxihexosa	Fuc	GDP-Fuc	Puede ser externa en glucoproteínas tanto N- como O-enlazadas, o interna, enlazada al residuo GlcNAc fijo a Asn en especies N-enlazadas. También puede encontrarse internamente fija al OH de Ser (p. ej., en t-PA y ciertos factores de la coagulación).
N-acetilgalactosamina	Aminohexosa	GalNAc	UDP-GalNAc	Presente en glucoproteínas tanto N- como O-enlazadas.
N-acetilglucosamina	Aminohexosa	GlcNAc	UDP-GlcNAc	El azúcar fijo a la cadena polipeptídica mediante Asn en glucoproteínas N-enlazadas; también se encuentra en otros sitios en los oligosacáridos de estas proteínas. Muchas proteínas nucleares tienen GlcNAc fijo al OH de Ser o Tre como un azúcar único.
Xilosa	Pentosa	Xyl	UDP-Xyl	Xil está fijo al OH de Ser en muchos proteoglucanos. Xil a su vez está fija a dos residuos Gal, lo que forma un enlace trisacárido. Xil también se encuentra en t-PA y ciertos factores de la coagulación.

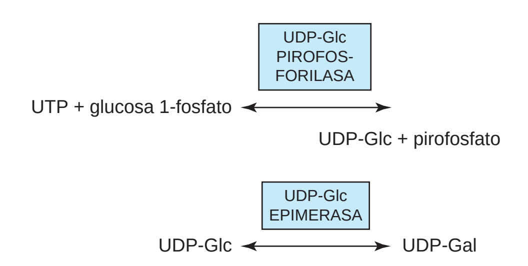
[1] Las estructuras de las glucoproteínas se ilustran en el capítulo 14.

de oligosacárido, fijo a residuos galactosa (Gal) o *N*-acetilgalactosamina (GalNAc) subterminales. Los otros azúcares listados por lo regular se encuentran en posiciones más internas. El **sulfato** suele encontrarse en glucoproteínas, por lo general fijo a Gal, GalNAc, o GlcNAc.

LOS AZÚCARES NUCLEÓTIDO ACTÚAN COMO DONADORES DE AZÚCAR EN MUCHAS REACCIONES BIOSINTÉTICAS

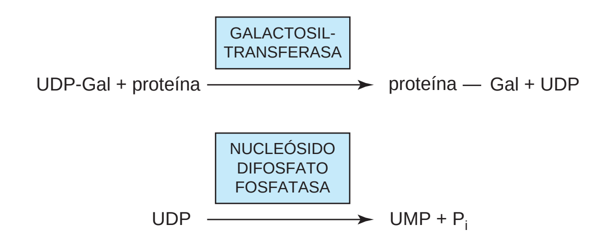
Tiene importancia entender que en casi todas las reacciones biosintéticas, no es el azúcar libre o el azúcar fosforilado el que participa en esas reacciones, sino más bien el **azúcar nucleótido** correspondiente. El primer azúcar nucleótido cuya existencia se informó fue la uridina difosfato glucosa (UDP-Glc), cuya estructura se muestra en la figura 19-2. En el cuadro 47-4 se listan los azúcares nucleótido comunes involucrados en la biosíntesis de glucoproteínas; no están claras las razones por las cuales algunos contienen UDP y otros difosfato de guanosina (GDP) o monofosfato de citidina (CMP). En muchas de las reacciones de glucosilación involucradas en la biosíntesis de glucoproteínas se usan estos compuestos (véase más adelante). La **naturaleza anhidro** del enlace entre el grupo fosfato y los azúcares es del tipo de alta energía, de alto potencial de transferencia de grupo (cap. 11). De este modo, los azúcares de estos compuestos están **"activados"** y pueden transferirse hacia aceptores idóneos con tal de que haya transferasas apropiadas disponibles.

Casi todos los azúcares nucleótido se forman en el citosol, generalmente a partir de reacciones que incluyen el nucleósido trifosfato correspondiente. Los ácidos CMP-siálicos se forman en el núcleo. La formación de uridina difosfato galactosa (UDP-Gal) requiere las dos reacciones que siguen en tejidos de mamíferos:



Dado que muchas reacciones de glucosilación ocurren dentro de la luz del aparato de Golgi, se necesitan **sistemas acarreadores** (permeasas, transportadores) para transportar azúcares nucleótido a través de la membrana de Golgi. Se han descrito sistemas que transportan UDP-Gal, GDP-Man y CMP-NeuAc hacia las cisternas del aparato de Golgi. Son sistemas **antiporte**; es decir, el flujo de entrada de una molécula de azúcar nucleótido está equilibrado por el flujo de salida de una molécula del nucleótido correspondiente (p. ej., UMP, GMP o CMP) formado a partir de los azúcares nucleótido.

Este mecanismo asegura una concentración adecuada de cada azúcar nucleótido dentro del aparato de Golgi. El UMP se forma a partir del UDP-Gal en el proceso anterior como sigue:



LAS EXOGLUCOSIDASAS Y ENDOGLUCOSIDASAS FACILITAN EL ESTUDIO DE LAS GLUCOPROTEÍNAS

Varias **glucosidasas** de especificidad definida han resultado útiles en el examen de los aspectos estructural y funcional de glucoproteínas (cuadro 47-5). Estas enzimas actúan en posiciones externa (exoglucosidasas) o interna (endoglucosidasas) de cadenas de oligosacárido. Los ejemplos de exoglucosidasas son **neuraminidasas** y **galactosidasas**; su uso secuencial elimina residuos de NeuAc terminales y Gal subterminales de casi todas las glucoproteínas. Las **endoglucosidasas F** y **H** son ejemplos de esta última clase; estas enzimas dividen las cadenas de oligosacárido en residuos GlcNAc específicos cerca del esqueleto polipeptídico (esto es, en sitios internos; fig. 47-5) y, de esta manera, son útiles en la liberación de cadenas de oligosacárido grandes para análisis estructurales. Una glucoproteína puede tratarse con una o más de las glucosidasas anteriores para analizar los efectos sobre su conducta biológica y eliminación de azúcares específicos.

EL RECEPTOR DE ASIALOGLUCOPROTEÍNA DE MAMÍFERO PARTICIPA EN LA DEPURACIÓN DE CIERTAS GLUCOPROTEÍNAS DEL PLASMA POR LOS HEPATOCITOS

Experimentos efectuados por Ashwell y sus colegas a principios del decenio de 1970-1979 fueron importantes en el enfoque de la atención sobre la importancia funcional de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas. Trataron ceruloplasmina (una proteína plasmática; cap. 50) de conejo con neuraminidasa *in vitro*. Este procedimiento expuso residuos Gal subterminales que normalmente estuvieron enmascarados por residuos NeuAc terminales. Se halló que la ceruloplasmina radiactiva tratada con neuraminidasa desaparece con rapidez de la circulación, en contraste con la depuración lenta de la proteína no tratada. Es muy importante que cuando los residuos Gal expuestos a tratamiento con neuraminidasa se eliminaron por medio de tratamiento con una galactosidasa, el índice de depuración de la proteína volvió a lo normal. Estudios adicionales demostraron que las células hepáticas contienen un **receptor de asialoglucoproteína de mamífero** que reconoce la porción Gal de muchas proteínas plasmáticas desialiladas y da pie a su endocitosis. Esta investigación indicó que un azúcar individual, como Gal, podría tener importancia en el gobierno de al menos una de las propiedades biológicas (es decir, el tiempo de residencia en la circulación) de ciertas glucoproteínas. Esto fortaleció mucho el concepto de que las cadenas de oligosacárido podrían contener información biológica.

CUADRO 47-5 Algunas glucosidasas empleadas para estudiar la estructura y función de glucoproteínas[1]

Enzimas	Tipo
Neuraminidasas	Exoglucosidasa
Galactosidasas	Exoglucosidasa o endoglucosidasa
Endoglucosidasa F	Endoglucosidasa
Endoglucosidasa H	Endoglucosidasa

[1]Las enzimas están disponibles a partir de diversas fuentes, y suelen ser específicas para ciertos tipos de enlaces glucosídicos y también para sus naturalezas anoméricas. La figura 47-5 muestra los sitios de acción de las endoglucosidasas F y H. F actúa sobre oligosacáridos tanto con alto contenido de manosa como complejos, mientras que H actúa sobre los primeros.

LAS LECTINAS PUEDEN EMPLEARSE PARA PURIFICAR GLUCOPROTEÍNAS Y SONDEAR SUS FUNCIONES

Las lectinas son **proteínas de unión a carbohidrato** que aglutinan células o precipitan glucoconjugados; varias lectinas son glucoproteínas ellas mismas. Las inmunoglobulinas que reaccionan con azúcares no se consideran lectinas. Las lectinas contienen por lo menos dos sitios de unión a azúcar; las proteínas que tienen un sitio de unión a azúcar único no aglutinarán células ni precipitarán glucoconjugados. La especificidad de una lectina por lo general se define por los azúcares que son mejores para inhibir su capacidad para causar aglutinación o precipitación. Las enzimas, toxinas y proteínas de transporte pueden clasificarse como lectinas si se unen a carbohidrato. Las lectinas se descubrieron en vegetales y microbios, pero ahora se conocen muchas lectinas de origen animal. El receptor de asialoglucoproteína de mamífero antes descrito es un ejemplo importante de una lectina de origen animal. El cuadro 47-6 lista algunas lectinas importantes. Gran parte de la investigación actual se centra en las funciones de diversas lectinas de origen animal en los mecanismos de acción de glucoproteínas, algunas de las cuales se comentan más adelante (p. ej., respecto a las selectinas).

Se han purificado muchas lectinas y están disponibles comercialmente; el cuadro 47-7 lista tres lectinas de origen vegetal de las cuales se ha hecho amplio uso experimental. Entre muchas aplicaciones, las lectinas se han utilizado para purificar glucoproteínas específicas, como recursos para sondear los perfiles de glucoproteína de superficie celulares, y como reactivos para generar células mutantes con deficiencia de ciertas enzimas involucradas en la biosíntesis de cadenas de oligosacárido.

HAY TRES CLASES PRINCIPALES DE GLUCOPROTEÍNAS

Con base en la naturaleza del enlace entre sus cadenas polipeptídicas y sus cadenas de oligosacárido, las glucoproteínas se dividen en tres clases principales (fig. 47-1): 1) las que contienen un **enlace**

CUADRO 47-6 Algunas lectinas importantes

Lectinas	Ejemplos o comentarios
Lectinas de legumbres	Concanavalina A, lectina de chícharo (guisante)
Aglutinina de germen de trigo	Ampliamente usada en estudios de superficies de células normales y células cancerosas
Ricino	Glucoproteína citotóxica derivada de las semillas de la planta ricino
Toxinas bacterianas	Enterotoxina lábil al calor de *E. coli* y toxina del cólera
Hemaglutinina del virus de la influenza	Se encarga de la fijación a la célula huésped y la fusión de membrana
Lectinas tipo C	Se caracterizan por un dominio de reconocimiento de carbohidrato (CRD) dependiente de Ca^{2+}; incluyen el receptor de asialoglucoproteína de mamífero, las selectinas, y la proteína de unión a manosa
Lectinas tipo S	Lectinas de origen animal de unión a β-galactosidasa con funciones en interacciones entre una célula y otra, y entre célula y matriz
Lectinas tipo P	Receptor de manosa 6-P
Lectinas tipo I	Miembros de la superfamilia de inmunoglobulina, p. ej., la sialoadhesina media la adherencia de macrófagos a diversas células

CUADRO 47-7 Tres lectinas vegetales y los azúcares con los cuales interactúan[1]

Lectina	Abreviatura	Azúcares
Concanavalina A	ConA	Man y Glc
Lectina de soya (soja)		Gal y GalNAc
Aglutinina de germen de trigo	WGA	Glc y NeuAc

[1]Las lectinas casi siempre muestran especificidad para la naturaleza anomérica del enlace glucosídico (α o β); esto no se indica en el cuadro.

O-glucosídico (es decir, O-enlazadas), que comprenden la cadena lateral hidroxilo de serina o treonina y un azúcar como *N*-acetilgalactosamina (GalNAc-Ser[Tre]); 2) las que contienen un **enlace *N*-glucosídico** (esto es, *N*-enlazadas), que involucran el nitrógeno amino de la asparagina y *N*-acetilglucosamina (GlcNAc-Asn), y 3) las enlazadas al aminoácido carboxilo terminal de una proteína mediante una porción fosforil-etanolamina unida a un oligosacárido (glucano), que a su vez se enlaza por medio de glucosamina a fosfatidilinositol (PI). Esta última clase se denomina glucoproteínas **ancladas a glucofosfatidilinositol (GPI-ancladas** o **GPI-enlazadas)**. Participa en la dirección de ciertas glucoproteínas hacia el área apical o basolateral de la membrana plasmática de ciertas células epiteliales polarizadas (véanse el cap. 46, y más adelante). También hay otras clases menores de glucoproteínas.

El número de cadenas de oligosacárido fijas a una proteína puede variar desde una hasta 30 o más; las cadenas de azúcar varían desde uno o dos residuos de longitud hasta estructuras de tamaño considerablemente mayor. Muchas proteínas contienen más de un tipo de cadena de azúcar; por ejemplo, la **glucoforina**, una importante glucoproteína de la membrana de los eritrocitos (cap. 52), contiene oligosacáridos tanto O-enlazados como N-enlazados.

LAS GLUCOPROTEÍNAS CONTIENEN VARIOS TIPOS DE ENLACES O-GLUCOSÍDICOS

En las glucoproteínas de ser humano se encuentran al menos cuatro subclases de enlaces O-glucosídicos: 1) el enlace **GalNAcSer(Tre)** (fig. 47-1) es el enlace predominante. La figura 47-2 muestra dos cadenas de oligosacárido típicas que se encuentran en miembros de esta subclase. Regularmente un residuo Gal o uno NeuAc está fijo al GalNAc, pero se encuentran muchas variaciones de las composiciones de azúcar y longitudes de esas cadenas de oligosacárido. Este tipo de enlaces se encuentra en **mucinas** (véase más adelante). 2) Los **proteoglucanos** contienen un trisacárido **Gal-Gal-Xil-Ser** (el llamado trisacárido de enlace). 3) Los **colágenos** contienen un enlace **Gal-hidroxilisina (Hil)**. (Las subclases [2] y [3] se comentan más en el cap. 48.) 4) Muchas **proteínas nucleares** (p. ej., ciertos factores de transcripción) y **proteínas citosólicas** contienen cadenas laterales que constan de un GlcNAc único fijo a un residuo serina o treonina **(GlcNAc-Ser[Tre])**.

Las mucinas tienen un alto contenido de oligosacáridos O-enlazados, y muestran secuencias de aminoácidos que se repiten

Las mucinas son glucoproteínas con dos características principales: 1) contenido alto de **oligosacáridos O-enlazados** (el contenido de carbohidrato de mucinas por lo general es de más de 50%), y 2) presencia de **secuencias de aminoácidos repetitivas** (repeticiones en tándem) en el centro de sus esqueletos polipeptídicos, a las cuales las cadenas de O-glucano están fijas en agrupaciones (fig. 47-3). Estas secuencias tienen alto contenido de serina, treonina y prolina. Si bien predominan los O-glucanos, las mucinas a menudo contienen varias cadenas de N-glucano. Hay mucinas tanto **secretoria** como u**nida a membrana**. Las primeras se encuentran en el moco presente en las secreciones del tubo digestivo, las vías respiratorias y las vías reproductoras. El **moco** consta de aproximadamente 94% de agua y 5% de mucinas; el resto es una mezcla de diversas moléculas celulares, electrólitos, y remanentes de células. Las mucinas secretorias por lo general tienen una estructura oligomérica y, así, suelen tener una masa molecular muy alta. Los oligómeros están compuestos de monómeros unidos por enlaces disulfuro. El moco muestra **viscosidad** alta y a menudo forma un **gel**. Estas cualidades son funciones de su contenido de mucina. El contenido alto de O-glucanos confiere una estructura extendida sobre mucinas. Esto se explica en parte por interacciones estéricas entre sus porciones GalNAc y aminoácidos adyacentes, lo que origina un efecto de endurecimiento de cadena, de modo que las conformaciones de mucinas suelen convertirse en las de varillas rígidas. Interacciones no covalentes intermoleculares entre diversos azúcares en cadenas de glucano vecinas contribuyen a la formación de gel. El contenido alto de residuos **NeuAc** y **sulfato** que se encuentra en muchas mucinas les confiere una carga negativa. En cuanto a la función, las mucinas ayudan a **lubricar** y forman una **barrera física protectora** sobre superficies

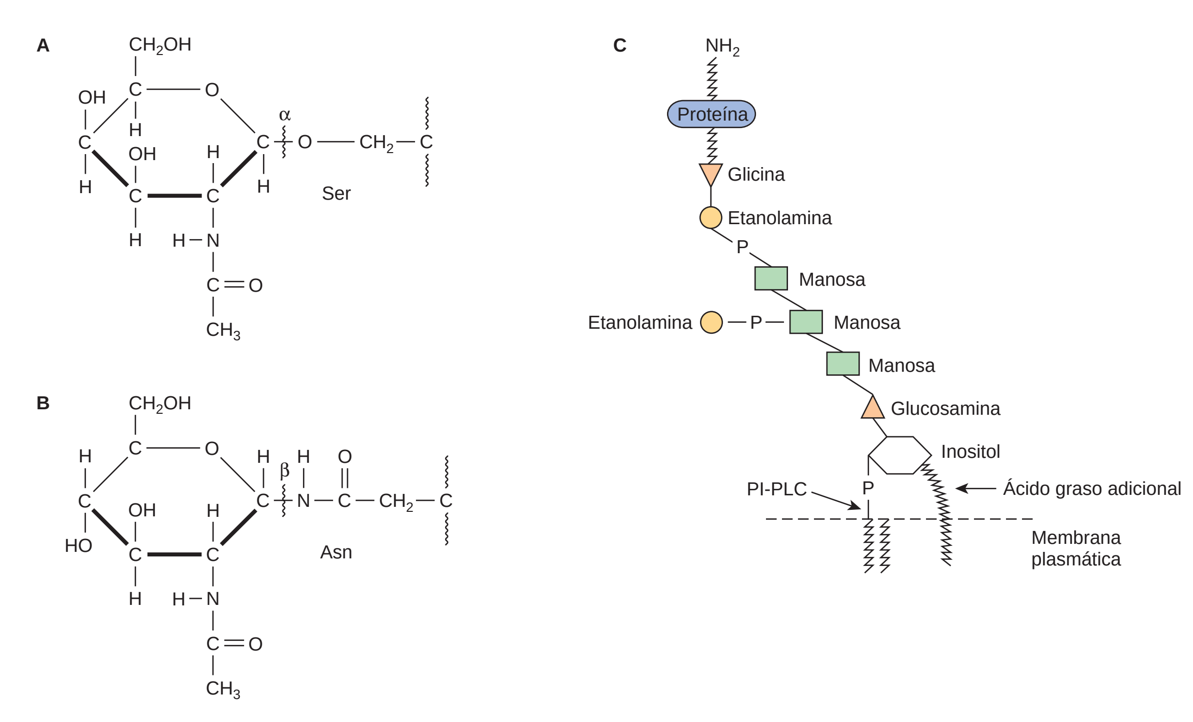


FIGURA 47-1 Representaciones de **(A)** un O-enlace (N- acetilgalactosamina a serina), **(B)** un N-enlace (N-acetilglucosamina a asparagina), y **(C)** un enlace de glucosilfosfatidilinositol (GPI). La estructura del GPI mostrada es la que enlaza a la acetilcolinesterasa a la membrana plasmática del eritrocito de ser humano. El aminoácido carboxilo terminal es glicina unida en enlace amida mediante su grupo COOH al grupo NH_2 de la fosforiletanolamina que, a su vez, está unida a un residuo manosa. El glucano central contiene tres residuos manosa y un residuo glucosamina. La glucosamina está enlazada a inositol, que está fijo a ácido fosfatídico. Se indica el sitio de acción de la PI-fosfolipasa C (PI-PLC). La estructura del glucano central se muestra en el texto. Este GPI particular contiene un ácido graso extra fijo a inositol, y una porción fosforiletanolamina extra fija a la mitad de los tres residuos manosa. Las variaciones que se encuentran entre diferentes estructuras del GPI incluyen la identidad del aminoácido carboxilo terminal, las moléculas fijas a los residuos manosa, y la naturaleza precisa de la porción lípido.

epiteliales. Las mucinas unidas a membrana participan en diversas **interacciones entre una célula y otra** (p. ej., que involucran selectinas; véase más adelante). La densidad de cadenas de oligosacárido dificulta que las **proteasas** se acerquen a sus esqueletos polipeptídicos, de manera que las mucinas a menudo son resistentes a su acción. Las mucinas también tienden a "enmascarar" ciertos antígenos de superficie. Muchas células cancerosas forman cantidades excesivas de mucinas; quizá estas últimas pueden enmascarar ciertos antígenos de superficie sobre esas células y, de este modo, las protegen contra la vigilancia inmunitaria. Las mucinas también portan epítopos péptido y carbohidrato específicos para cáncer (un epítopo es un sitio en un antígeno reconocido por un anticuerpo, también denominado un determinante antigénico). Algunos de estos epítopos se han empleado para estimular una respuesta inmunitaria contra células cancerosas.

A

NeuAc —α 2,6→ GalNAc ——→ Ser (Tre)

B

Gal —β 1,3→ GalNAc ——→ Ser (Tre)
↑α 2,3 (NeuAc → Gal)
↑α 2,6 (NeuAc → GalNAc)

FIGURA 47-2 Estructuras de dos oligosacáridos O-enlazados hallados en **(A)** mucinas submaxilares y **(B)** fetuína y en la sialoglucoproteína de la membrana de eritrocitos de ser humano. (Modificada y reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

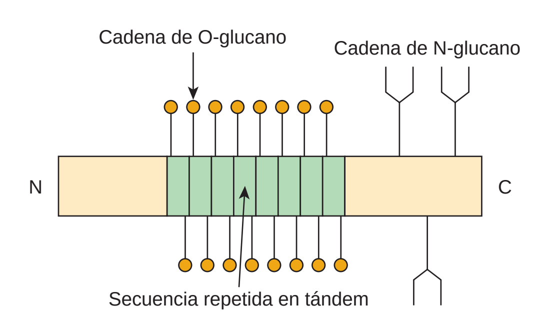


FIGURA 47-3 Diagrama esquemático de una mucina. Las cadenas de O-glucano se muestran fijas a la región central de la cadena polipeptídica extendida y cadenas de N-glucano a la región carboxilo terminal. Los rectángulos estrechos representan una serie de secuencias de aminoácidos repetidas en tándem. Muchas mucinas contienen residuos cisteína cuyos grupos SH forman enlaces intercadena; éstos no se muestran en la figura. (Adaptada, con autorización, de Strous GJ, Dekker J: Mucin-type glycoproteins. Crit Rev Biochem Mol Biol 1992;27:57. Copyright ©1992. Reproducida con autorización de Taylor & Francis Group, LLC.)

Se han clonado y secuenciado los **genes** que codifican para los esqueletos polipeptídicos de diversas mucinas derivadas de varios tejidos (p. ej., páncreas, intestino delgado, tráquea y bronquios, estómago, y glándulas salivales). Estos estudios han revelado nueva información acerca de los esqueletos polipeptídicos de las mucinas (tamaño de repeticiones en tándem, sitios potenciales de N-glucosilación, etc.) y finalmente deben revelar aspectos de su control genético. El cuadro 47-8 resume algunas propiedades importantes de las mucinas.

En la biosíntesis de glucoproteínas O-enlazadas se usan azúcares nucleótido

Las cadenas polipeptídicas de glucoproteínas O-enlazadas y otras están codificadas por especies de mRNA; puesto que muchas glucoproteínas están unidas a membrana o son secretadas, por lo general se traducen en polirribosomas unidos a membrana (cap. 37). Hay cientos de cadenas de oligosacárido diferentes del tipo O-glucosídico. Estas glucoproteínas se acumulan mediante la **donación por pasos de azúcares desde azúcares nucleótido**, como UDP-GalNAc, UD-PGal y CMP-NeuAc. Las enzimas que catalizan este tipo de reacción son **glucoproteína glucosil transferasas** unidas a membrana. Regularmente, la síntesis de un tipo específico de enlace requiere la actividad de una transferasa específica en forma correspondiente. No se han identificado los factores que determinan cuáles residuos serina y treonina específicos se glucosilan, pero probablemente se encuentran en la estructura peptídica que rodea al sitio de glucosilación. Las enzimas que semejan cadenas O-enlazadas están localizadas en el aparato de Golgi, dispuestas de manera secuencial en una cadena de montaje con reacciones terminales que ocurren en los compartimientos *trans*-Golgi.

El cuadro 47-9 resume las principales características de la biosíntesis de glucoproteínas O-enlazadas.

CUADRO 47-8 Algunas propiedades de las mucinas

• Se encuentran en secreciones del tubo digestivo, las vías respiratorias y las vías de la reproducción, y en membranas de diversas células.
• Muestran alto contenido de cadenas de O-glucano, por lo regular contienen NeuAc.
• Contienen secuencias de aminoácidos repetitivas ricas en serina, treonina y prolina.
• La estructura extendida contribuye a su viscoelasticidad alta.
• Forman una barrera física protectora sobre superficies epiteliales, participan en interacciones entre una célula y otra, y pueden contener o enmascarar ciertos antígenos de superficie.

CUADRO 47-9 Resumen de las principales características de la O-glucosilación

• Comprende una batería de glucoproteína glucosiltransferasas unidas a membrana, que actúan por pasos; cada transferasa por lo general es específica para un tipo de enlace particular.
• Las enzimas involucradas están ubicadas en diversos subcompartimientos del aparato de Golgi.
• Cada reacción de glucosilación incluye el azúcar nucleótido apropiado.
• El dolicol-P-P-oligosacárido no está involucrado; tampoco lo están las glucosidasas, y la tunicamicina no inhibe las reacciones.
• La O-glucosilación ocurre de modo postraduccional en ciertos residuos Ser y Tre.

LAS GLUCOPROTEÍNAS N-ENLAZADAS CONTIENEN UN ENLACE Asn-GLcNAc

Las glucoproteínas N-enlazadas se distinguen por la presencia del enlace Asn-GlcNAc (fig. 47-1). Es la principal clase de glucoproteínas y se ha estudiado mucho, dado que las glucoproteínas más fácilmente accesibles (p. ej., proteínas plasmáticas) pertenecen principalmente a este grupo. Incluye glucoproteínas tanto **unidas a membrana** como **circulantes**. La principal diferencia entre esta clase y la previa, además de la naturaleza del aminoácido al cual se fija la cadena de oligosacárido (Asn en contraposición con Ser o Tre), tiene que ver con su biosíntesis.

Las tres principales clases de oligosacáridos N-enlazados son complejos, híbridos y con alto contenido de manosa

Hay tres clases importantes de oligosacáridos N-enlazados: **complejos**, **híbridos** y con **alto contenido de manosa** (fig. 47-4). Cada tipo comparte un pentasacárido, $Man_3GlcNAc_2$ —que se muestra dentro del área encerrada en un cuadro en la figura 47-4, y se representa también en la figura 47-5—, pero difieren en sus ramas externas. La presencia del **pentasacárido común** se explica por el hecho de que las tres clases comparten un mecanismo de biosíntesis inicial. Las glucoproteínas del tipo complejo por lo general contienen residuos NeuAc terminales y residuos Gal y GlcNAc subyacentes; estos últimos suelen constituir el disacárido *N*-acetil lactosamina. Las unidades de ***N*-acetil lactosamina** que se repiten —[Galβ1–3/4GlcNAcβ 1–3]$_n$ (poli-*N*-acetil lactosaminoglucanos)— a menudo se encuentran en cadenas de glucano N-enlazadas. Las sustancias de grupo sanguíneo I/i pertenecen a esta clase. Casi todos los oligosacáridos de tipo complejo contienen 2, 3 o 4 ramas externas (fig. 47-4), pero también se han descrito estructuras que contienen cinco ramas. Las ramas de oligosacárido suelen llamarse **antenas**, de modo que pueden encontrarse estructuras biantenarias, triantenarias, tetraantenarias y pentaantenarias. Hay un número desconcertante de cadenas del tipo complejo, y la que se indica en la figura 47-4 sólo es una de muchas. Otras cadenas complejas pueden terminar en Gal o Fuc. Los oligosacáridos con alto contenido de manosa típicamente tienen dos a seis residuos Man adicionales enlazados al centro pentasacárido. Las moléculas híbridas contienen características de las otras dos clases.

La biosíntesis de glucoproteínas N-enlazadas involucra dolicol-P-P-oligosacárido

Leloir y sus colegas describieron un **dolicol-pirofosfato-oligosacárido (Dol-P-P-oligosacárido)**, cuya investigación subsiguiente mostró que tiene una función clave en la biosíntesis de glucoproteínas N-enlazadas. La cadena de oligosacárido de este compuesto por

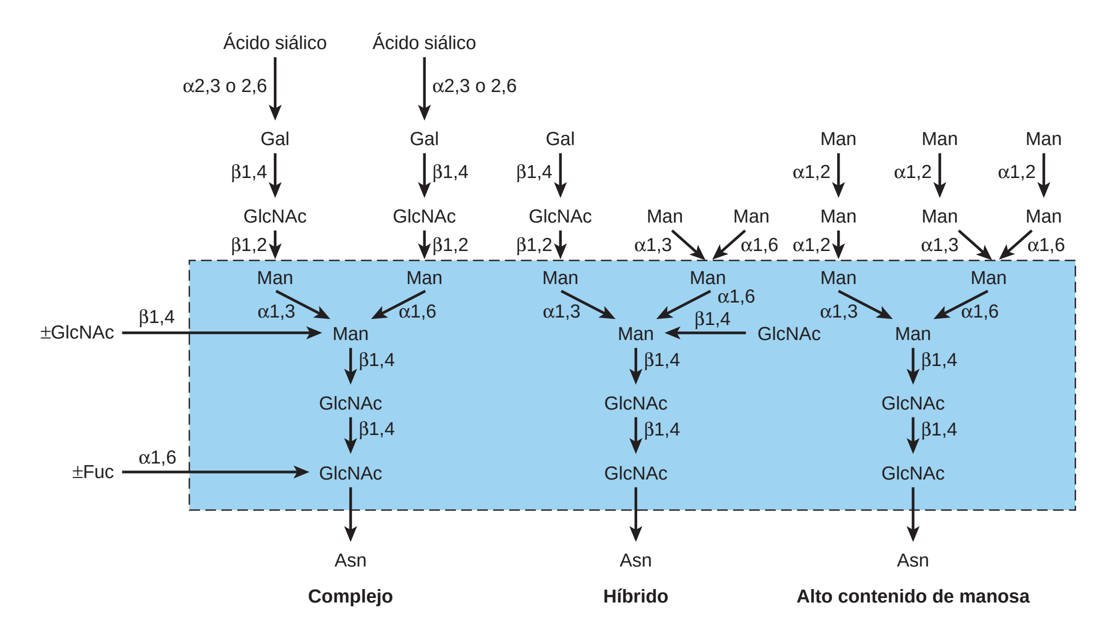


FIGURA 47-4 Estructuras de los principales tipos de oligosacáridos enlazados a asparagina. El área incluida en un cuadro encierra el centro pentasacárido común a todas las glucoproteínas N-enlazadas. (Reproducida, con autorización, de Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagines-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631. Copyright © 1985 por Annual Reviews. Reimpresa con autorización.)

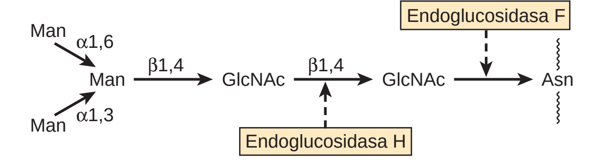


FIGURA 47-5 Diagrama esquemático del centro pentasacárido común a todas las glucoproteínas N-enlazadas, y al cual pueden fijarse diversas cadenas externas de oligosacáridos. También se indican los sitios de acción de endoglucosidasas F y H.

lo general tiene la estructura R-GlcNAc$_2$Man$_9$Glc$_3$ (R = DolP-P). Los azúcares de este compuesto se ensamblan primero en el esqueleto Dol-P-P, y la cadena de oligosacárido a continuación se transfiere en bloque hacia residuos Asn idóneos de apoglucoproteínas aceptoras durante su síntesis en polirribosomas unidos a membrana. Todos los N-glucanos tienen una estructura central de pentasacárido común (fig. 47-5).

Para formar cadenas con **alto contenido de manosa** sólo se eliminan los residuos Glc más algunos de los residuos Man periféricos. Para formar una cadena de oligosacárido del **tipo complejo**, los residuos Glc y cuatro de los residuos Man se eliminan por medio de glucosidasas en el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. Los azúcares característicos de las cadenas complejas (GlcNAc, Gal, NeuAc) se añaden mediante la acción de glucosiltransferasas individuales localizadas en el aparato de Golgi. El fenómeno por el cual las cadenas de glucano de glucoproteínas N-enlazadas primero se degradan parcialmente y después en algunos casos se reconstruyen se denomina **procesamiento de oligosacárido**. Las **cadenas híbridas** se forman por medio de procesamiento parcial, que forma cadenas complejas en un extremo, y estructuras Man en el otro.

De esta manera, los pasos iniciales involucrados en la biosíntesis de las glucoproteínas N-enlazadas difieren de modo notorio de los comprendidos en la biosíntesis de las glucoproteínas O-enlazadas. La primera incluye Dol-P-P-oligosacárido, no así la segunda, como se describió.

El proceso de N-glucosilación puede fragmentarse en dos etapas: 1) montaje de Dol-P-P-oligosacárido y transferencia del oligosacárido, y 2) procesamiento de la cadena de oligosacárido.

Montaje y transferencia de dolicol-P-P-oligosacárido

Los compuestos **poliisoprenol** existen tanto en bacterias como en las células eucarióticas. Participan en la síntesis de polisacáridos bacterianos y en la biosíntesis de glucoproteínas N-enlazadas y anclas GPI. El poliisoprenol empleado en tejidos eucarióticos es el **dolicol**, que, junto al caucho, es el hidrocarburo natural más largo constituido por una unidad repetitiva única. El dolicol está compuesto de 17 a 20 unidades isoprenoides repetitivas (fig. 47-6).

Antes de que participe en la biosíntesis de Dol-P-P-oligosacárido, el dolicol primero se debe fosforilar para formar dolicol fosfato (Dol-P) en una reacción catalizada por la **dolicol cinasa** y que usa ATP como el donador de fosfato.

El **dolicol-P-P-GlcNAc (Dol-P-P-GlcNAc)** es el lípido clave que actúa como un aceptor para otros azúcares en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido. Se sintetiza en las membranas del retículo endoplásmico a partir de Dol-P y UDP-GlcNAc en la reacción que sigue, catalizada por la GlcNAc-P transferasa:

$$\text{Dol-P} + \text{UDP-GlcNAc} \rightarrow \text{Dol-P-P-GlcNAc} + \text{UMP}$$

La figura 47-7 resume la reacción anterior —que es el primer paso en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido— y las otras reacciones más

$$HO-CH_2-CH_2-\underset{CH_3}{\overset{H}{C}}-CH_2-\left[CH_2-CH=\overset{CH_3}{C}-CH_2\right]_n-CH_2-CH=\overset{CH_3}{C}-CH_3$$

FIGURA 47-6 La estructura del dolicol. El fosfato en el dolicol fosfato está fijo al grupo alcohol primario en el extremo izquierdo de la molécula. El grupo dentro de los corchetes es una unidad de isopreno (n = 17 a 20 unidades isoprenoides).

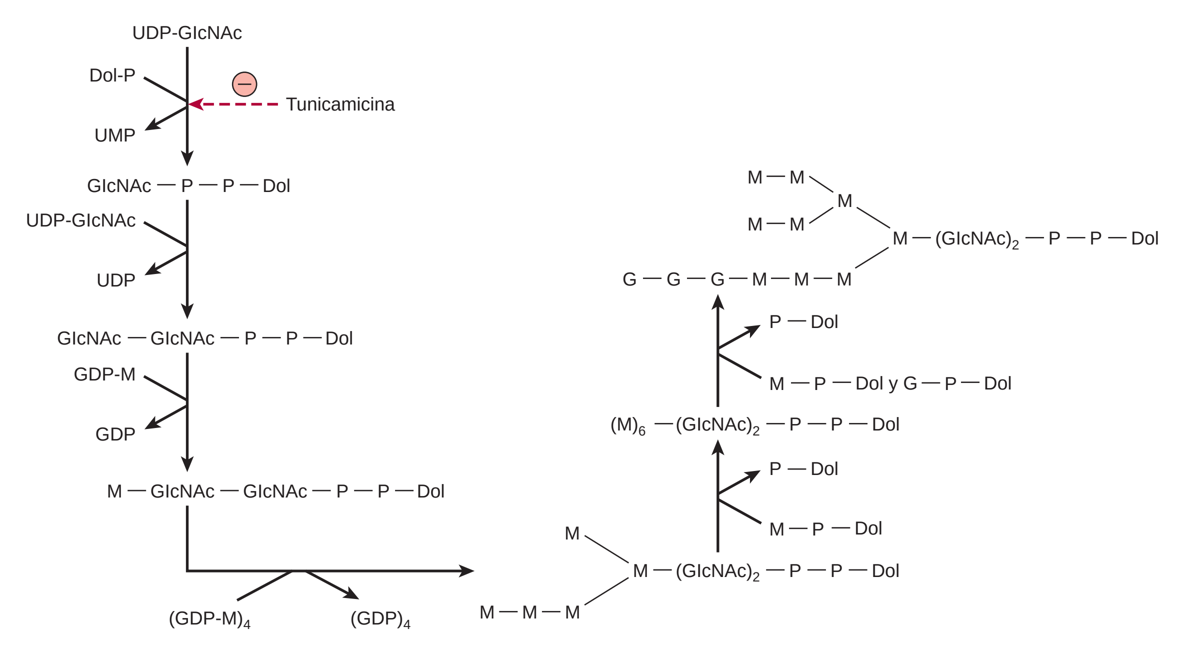


FIGURA 47-7 Vías de biosíntesis del dolicol-P-P-oligosacárido. Los enlaces específicos que se forman están indicados en la figura 47-8. Nótese que la GDP-manosa dona los primeros cinco residuos manosa internos, mientras que la dolicol-P-manosa y dolicol-P-glucosa donan los residuos manosa más externos y los residuos glucosa. (UDP, uridina difosfato; Dol, dolicol; P, fosfato; UMP, uridina monofosfato; GDP, guanosina difosfato; M, manosa; G, glucosa.)

tardías. Las características esenciales de los pasos subsiguientes en el montaje de Dol-P-P-oligosacárido son como sigue:

1. Un segundo residuo GlcNAc se añade al primero, de nuevo empleando UDP-GlcNAc como el donador.
2. Se añaden cinco residuos Man, usando GDP-manosa como el donador.
3. A continuación se agregan cuatro residuos Man adicionales, empleando Dol-P-Man como el donador. Dol-P-Man se forma mediante la reacción que sigue:

$$\text{Dol-P} + \text{GDP-Man} \rightarrow \text{Dol-P-Man} + \text{GDP}$$

4. Por último, los tres residuos de glucosa periféricos son donados por Dol-P-Glc, que se forma en una reacción análoga a la que acaba de presentarse, excepto porque los sustratos son Dol-P y UDP-Glc.

Cabe hacer notar que azúcares nucleótido donan los primeros siete azúcares (dos residuos GlcNAc y cinco Man), mientras que azúcares dolicol donan los últimos siete azúcares (cuatro residuos Man y tres Glc) añadidos. El resultado neto es montaje del compuesto que se ilustra en la figura 47-8 y se llama de manera abreviada Dol-P-P-GlcNAc$_2$Man$_9$Glc$_3$.

El oligosacárido enlazado a dolicol-P-P se transfiere en bloque para formar un enlace N-glucosídico con uno o más residuos Asn específicos de una proteína aceptora que surge a partir de la superficie luminal de la membrana del retículo endoplásmico. La reacción es catalizada por **oligosacárido**:**proteína transferasa**, un complejo enzimático relacionado con membrana. La transferasa reconocerá y transferirá cualquier sustrato que tenga la estructura general Dol-P-P-(GlcNAc)$_2$-R, pero tiene una fuerte preferencia por la estructura Dol-P-P-GlcNAc$_2$Man$_9$Glc$_3$. La glucosilación sucede en el residuo Asn de una secuencia tripeptídica Asn-XSer/Tre, donde X es

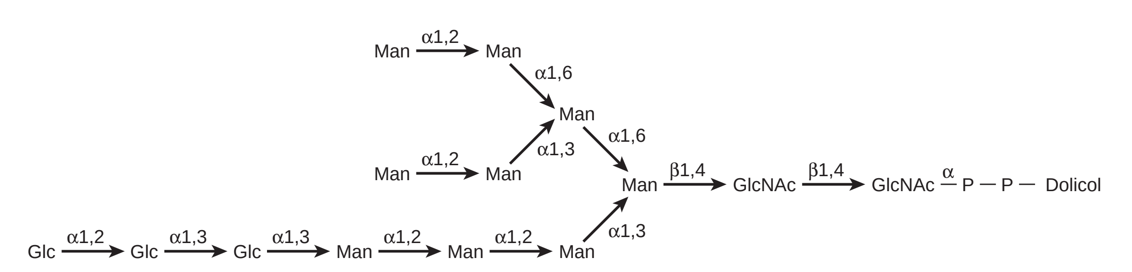


FIGURA 47-8 Estructura del dolicol-P-P-oligosacárido. (Tomada de Li E, et al.: Structure of the lipid-linked oligosaccharide precursor of the complex-type oligosaccharides of the vesicular stomatitis virus G protein. J Biol Chem 1978;253:7762.)

cualquier aminoácido salvo prolina, ácido aspártico o ácido glutámico. Se favorece un sitio tripéptido contenido dentro de una vuelta β. Sólo alrededor de una tercera parte de los residuos Asn que son sitios aceptores potenciales en realidad se glucosila, lo que sugiere que también son importantes factores que no son el tripéptido.

Las proteínas aceptoras son de la clase de membrana tanto secretoria como integral. Las proteínas citosólicas rara vez están glucosiladas. La figura 47-9 presenta la reacción de transferencia y los procesos subsiguientes en la glucosilación de glucoproteínas N-enlazadas, junto con sus ubicaciones intracelulares. El otro producto de la reacción de oligosacárido:proteína transferasa es el dolicol-P-P, que luego se convierte en dolicol-P por medio de una fosfatasa. El dolicol-P puede servir de nuevo como un aceptor para la síntesis de otra molécula de Dol-P-P-oligosacárido.

Procesamiento de la cadena de oligosacárido

1. Fase temprana. En la figura 47-9 se indican las diversas reacciones involucradas. La oligosacárido:proteína transferasa cataliza la reacción 1 (véase antes). Las reacciones 2 y 3 comprenden la eliminación del residuo Glc terminal por la glucosidasa I, y de los siguientes dos residuos Glc por la glucosidasa II, respectivamente. En el caso de glucoproteínas **con alto contenido de manosa**, el proceso puede detenerse aquí, o también se pueden eliminar hasta cuatro residuos Man. Empero, para formar cadenas **complejas**, se necesitan pasos adicionales, como sigue. En las reacciones 4 y 5 se eliminan cuatro residuos Man externos mediante por lo menos dos manosidasas distintas. En la reacción 6, la GlcNAc transferasa I añade un residuo GlcNAc al residuo Man del extremo Man 1-3. La acción de esta última enzima permite que ocurra la reacción 7, una reacción catalizada por aun otra manosidasa (α-manosidasa II de Golgi) y que suscita una disminución de los residuos Man hacia el número central de tres (fig. 47-5).

En las reacciones I y II de la figura 47-9 se indica una vía adicional importante. Esto incluye enzimas destinadas a **lisosomas**. Tales enzimas se dirigen hacia los lisosomas mediante un marcador químico específico. En la reacción I, un residuo GlcNAc-1-P se añade al carbono 6 de uno o más residuos Man específicos de estas enzimas. La reacción es catalizada por una GlcNAc fosfotransferasa, que usa UDPGlcNAc como el donador y genera UMP como el otro producto:

GlcNAc FOSFO-TRANSFERASA

UDP-GlcNAc + Man — proteína ⟶ GlcNAc-1-P-6-Man — proteína + UMP

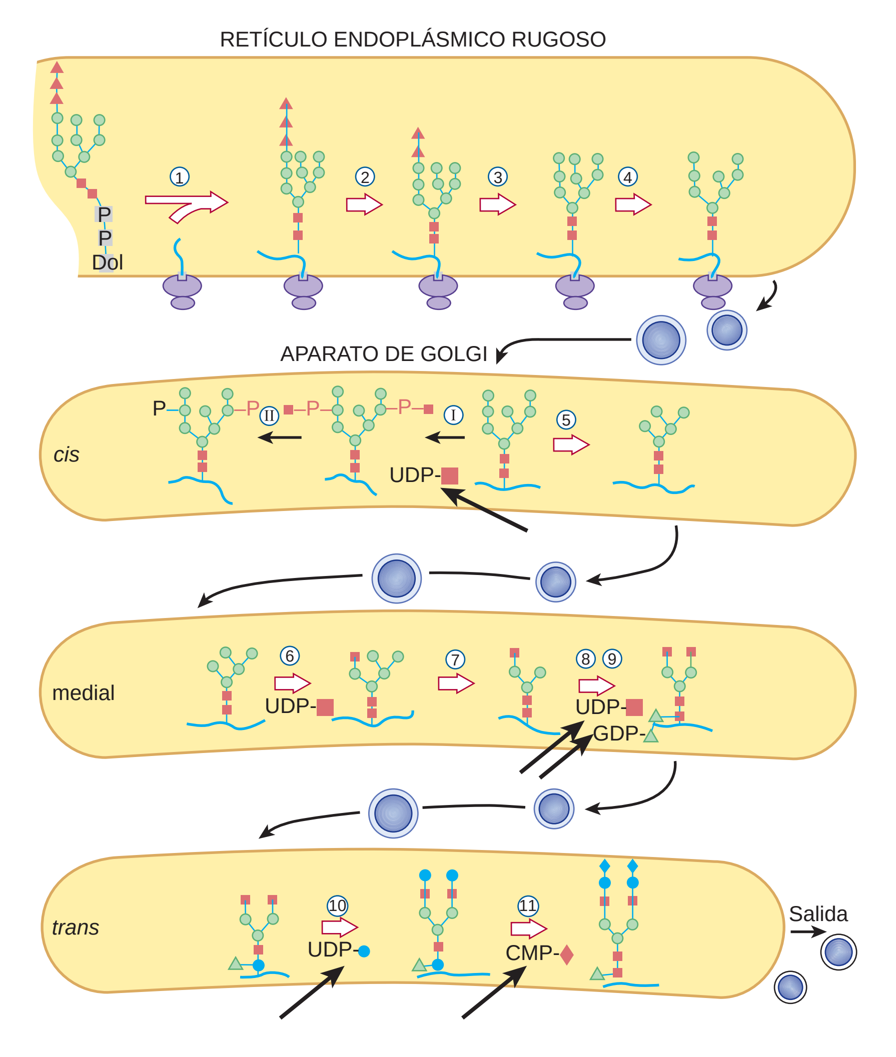


FIGURA 47-9 Vía esquemática del procesamiento de oligosacárido. Las reacciones están catalizadas por las enzimas que siguen: oligosacárido:proteína transferasa; α-glucosidasa I; α-glucosidasa II; retículo endoplásmico α 1,2-manosidasa; I *N*-acetilglucosaminilfosfotransferasa; II *N*-acetilglucosamina-1-fosfodiéster α-*N*-acetilglucosaminidasa; α-manosidasa I del aparato de Golgi; *N*-acetilglucosaminiltransferasa I; α-manosidasa II del aparato de Golgi; *N*-acetilglucosaminiltransferasa II; fucosiltransferasa; galactosiltransferasa; sialiltransferasa. Las flechas gruesas indican diversos azúcares nucleótido comprendidos en el esquema general. (Cuadrado rojo, *N*-acetilglucosamina; círculo verde, manosa; triángulo rojo, glucosa; triángulo verde, fucosa; círculo azul, galactosa; rombo rojo, ácido siálico.) (Reproducida, con autorización, de Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631. Copyright © 1985 por Annual Reviews. Reimpresa con autorización.)

En la reacción en II, el GlcNAc se elimina por medio de la acción de una fosfodiesterasa, lo que deja los residuos Man fosforilados en la posición 6:

FOSFO-DIESTERASA

GlcNAc-1-P-6-Man — proteína ⟶ P-6-Man — proteína + GlcNAc

Los receptores de Man 6-P, localizados en el aparato de Golgi, se unen a los residuos Man 6-P de estas enzimas y los dirigen hacia los lisosomas. Los fibroblastos de pacientes con **enfermedad de célula I** (véase más adelante) muestran deficiencia grave de la actividad de la GlcNAc fosfotransferasa.

2. **Fase tardía**. Para montar la cadena de oligosacárido compleja típica, es necesario añadir azúcares adicionales a la estructura que se forma en la reacción 7. En consecuencia, en la reacción 8 se añade un segundo GlcNAc al residuo Man periférico del otro extremo de la estructura biantenaria que se muestra en la figura 47-9; la enzima que cataliza este paso es la GlcNAc transferasa II. Las reacciones 9, 10 y 11 comprenden la adición de residuos Fuc, Gal y NeuAc en los sitios indicados, en reacciones catalizadas por fucosil, galactosil y sialil transferasas, respectivamente. El montaje de cadenas de poli-*N*-acetil-lactosamina requiere GlcNAc transferasas adicionales.

El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi son los principales sitios de glucosilación

El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi son los principales sitios involucrados en procesos de glucosilación (fig. 47-9). El Dol-P-P-oligosacárido se monta en las superficies tanto citoplásmica como luminal de las membranas del ER. El oligosacárido se añade a proteína en el retículo endoplásmico rugoso en el transcurso de la traducción o después. El Glc y algunos de los residuos Man periféricos también se eliminan en el retículo endoplásmico. El aparato de Golgi está compuesto de cisternas *cis*, medial y *trans;* éstas se pueden separar mediante procesos de centrifugación apropiados. Las vesículas que contienen glucoproteínas brotan en el retículo endoplásmico y se transportan hacia el *cis*-Golgi. Varios estudios han mostrado que las enzimas involucradas en el procesamiento de glucoproteína muestran ubicaciones diferenciales en las cisternas del aparato de Golgi. La α-manosidasa I de Golgi (que cataliza la reacción 5) está localizada principalmente en el *cis*-Golgi, mientras que la GlcNAc transferasa I (que cataliza la reacción 6) parece estar localizada en el Golgi medial, y las fucosil, galactosil y sialil transferasas (que catalizan las reacciones 9, 10 y 11) están localizadas principalmente en el *trans*-Golgi. Las principales características de la biosíntesis de glucoproteínas *N*-enlazadas se resumen en el cuadro 47-10, y deben contrastarse con las listadas previamente (cuadro 47-9) para glucoproteínas O-enlazadas.

CUADRO 47-10 Resumen de las principales características de la N-glucosilación

- El oligosacárido $Glc_3Man_9(GlcNAc)_2$ se transfiere desde el dolicol-P-P-oligosacárido en una reacción catalizada por oligosacárido:proteína transferasa, que es inhibida por la tunicamicina.
- La transferencia sucede hacia residuos Asn específicos en la secuencia AsnX-Ser/Tre, donde X es cualquier residuo salvo Pro, Asp o Glu.
- La transferencia puede ocurrir de manera cotraduccional en el retículo endoplásmico.
- El oligosacárido unido a proteína a continuación se procesa parcialmente por glucosidasas y manosidasas; si no se añaden azúcares adicionales, esto produce una cadena con alto contenido de manosa.
- Si el procesamiento sucede por el pentasacárido central ($Man_5[GlcNAc]_2$), las cadenas complejas se sintetizan por medio de la adición de GlcNAc, la eliminación de dos Man, y la adición por pasos de azúcares individuales en reacciones catalizadas por transferasas específicas (p. ej., GlcNAc, Gal, NeuAc transferasas) que emplean azúcares nucleótido apropiados.

Algunos intermediarios glucano que se forman durante la N-glucosilación tienen funciones específicas

Las que siguen son varias funciones específicas de cadenas de N-glucano que se han establecido o se están investigando: 1) la participación de la **señal de manosa 6-P** en la dirección de ciertas enzimas lisosómicas está clara (véanse antes y la exposición sobre enfermedad de célula I, más adelante). 2) Es probable que las cadenas de N-glucano grandes presentes en glucoproteínas recién sintetizadas ayuden a mantener estas proteínas en el **estado soluble** dentro de la luz del retículo endoplásmico. 3) Se ha mostrado que una especie de cadenas de N-glucano participa en el plegado y la retención de ciertas glucoproteínas en la luz del retículo endoplásmico. La **calnexina** es una proteína presente en la membrana del retículo endoplásmico, que actúa como un chaperón (cap. 46) y lectina. La unión a calnexina evita que se agregue una glucoproteína. Se ha hallado que la calnexina se unirá de modo específico a diversas glucoproteínas (p. ej., la hemaglutinina [HA] del virus de la influenza) que posee la **estructura central monoglucosilada**. Esta especie es el producto de la reacción 2 que se muestra en la figura 47-9, pero a partir de la cual se ha eliminado el residuo glucosa terminal, lo que sólo deja fija la glucosa más interna. La calnexina y la glucoproteína unida forman un complejo con **ERp57**, un homólogo de la proteína disulfuro isomerasa (PDI), que cataliza el intercambio de enlace disulfuro, lo que facilita el plegado apropiado. La glucoproteína unida se libera desde su complejo con calnexina-ERp57 cuando la única glucosa que queda es hidrolizada por la glucosidasa II y **abandona el ER si está plegada de manera apropiada**. Si **no está plegada de modo apropiado**, una **glucosil transferasa** del ER reconoce esto y **vuelve a glucosilar** la glucoproteína, que **vuelve a unirse** al complejo de calnexina-Erp57. Si ahora está plegada de manera apropiada, la glucoproteína vuelve a pasar por desglucosilación, y abandona el ER. Si carece de capacidad de plegado apropiado, se **transloca hacia afuera del ER** hacia el citoplasma, donde se **degrada** (compárese con la fig. 46-8). Este denominado ciclo de la **calnexina** se ilustra en la figura 47-10. Así, la calnexina retiene ciertas glucoproteínas plegadas en parte (o plegadas de modo erróneo), y las libera cuando ha sucedido plegado adicional. La glucosil transferasa, al **detectar** el plegado de la glucoproteína y únicamente volver a glucosilar proteínas plegadas de manera errónea, es un componente clave del ciclo. El ciclo de la calnexina es un componente importante de los **siste-**

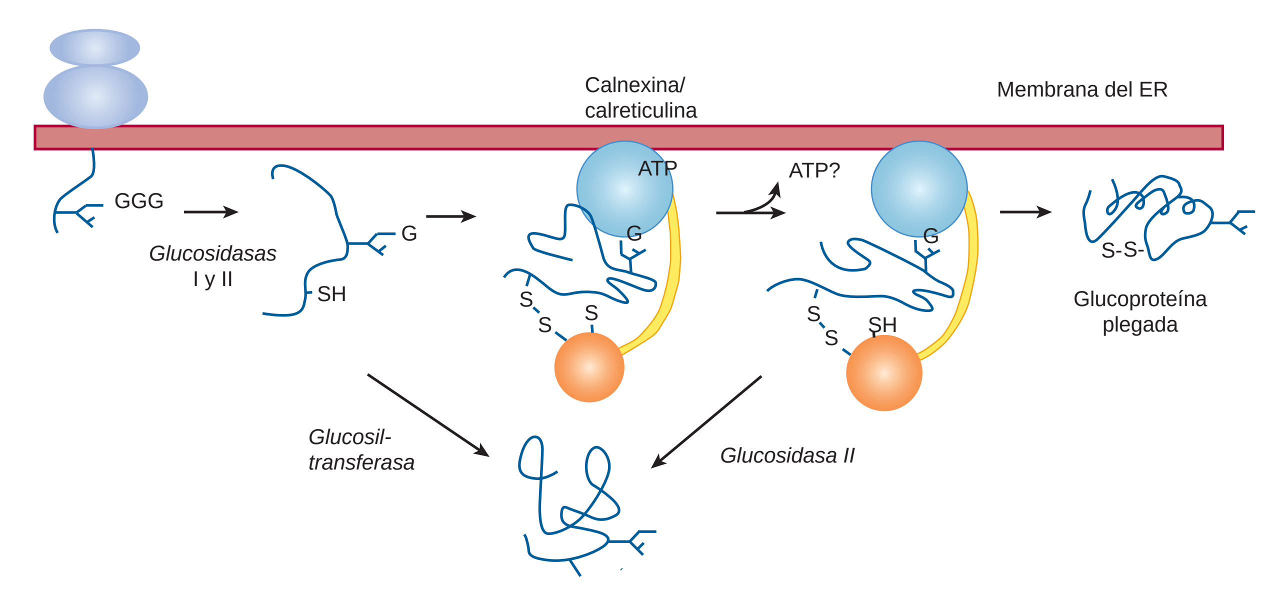


FIGURA 47-10 Modelo del ciclo de la calnexina. Conforme una cadena polipeptídica naciente (en crecimiento) entra en el ER, ciertos residuos Asn se glucosilan por medio de la adición de $Glc_3Man_9GlcNAc_2$ (véase el texto). Las dos moléculas de glucosa más externas se eliminan mediante las acciones de las glucosidasas I y II. Esto expone la molécula de glucosa más interna, que es reconocida por los sitios lectina de la calnexina y la calreticulina. En su estado unido a ATP, la calnexina y calreticulina se unen al oligosacárido monoglucosilado (por medio de sus sitios de lectina), así como a segmentos hidrofóbicos de la glucoproteína desdoblada (mediante sus sitios de unión a polipéptido o sitios chaperón). La disociación de glucoproteína incluye la acción de la glucosidasa II para eliminar la glucosa terminal, y un cambio de afinidad del sitio de unión a polipéptido. Después de disociación, si no sucede plegado con rapidez, la glucoproteína se vuelve a glucosilar por medio de una ER glucosiltransferasa, que sólo actúa sobre conformadores de proteína no naturales (conformador = una proteína en una de varias conformaciones posibles). La glucoproteína que se volvió a glucosilar entonces puede volver a unirse a la forma ATP de la calnexina/calreticulina. De esta manera, tanto la glucosiltransferasa como la calnexina/calreticulina actúan como detectores de plegado. Este ciclo de unión y liberación tiene tres funciones: evita agregación de glucoproteína; retiene conformadores no naturales en el ER en tanto no se adquiere una estructura natural (control de calidad), y la unión a calnexina/calreticulina acerca a Erp57 a la glucoproteína no natural. El Erp57 cataliza la formación de enlace disulfuro y la isomerización dentro del sustrato glucoproteína, lo que le ayuda a adoptar su conformación natural. Si la glucoproteína es incapaz de plegarse de modo apropiado, se transloca hacia afuera del ER hacia el citoplasma para degradación proteosómica (compárese con la fig. 46-8). La calreticulina, una proteína soluble del ER, desempeña una función similar a la de la calnexina. (G, glucosa.) (La figura y el pie de figura fueron proporcionados generosamente por el Dr. D B Williams, y se modificaron un poco con su autorización.)

mas de control de calidad que operan en la luz del ER. La proteína soluble del ER **calreticulina** desempeña una función similar.

Varios factores regulan la glucosilación de glucoproteínas

Es evidente que la glucosilación de glucoproteínas es un proceso complejo que involucra gran número de enzimas. Se ha estimado que alrededor de 1% del genoma humano tal vez esté involucrado en eventos de glucosilación. Otro índice de su complejidad es que se han reportado más de 10 GlcNAc transferasas distintas que participan en la biosíntesis de glucoproteínas, y otras son en teoría posibles. También hay múltiples especies de las otras glucosiltransferasas (p. ej., sialiltransferasas). El control de los factores de la primera etapa de la biosíntesis de glucoproteínas N-enlazadas (es decir, **montaje y transferencia de oligosacárido**) incluye: 1) la presencia de sitios aceptores idóneos en proteínas; 2) las cifras de Dol-P en tejido, y 3) la actividad de la oligosacárido:proteína transferasa.

En el cuadro 47-11 se muestran algunos factores que se sabe que intervienen en la regulación del **procesamiento de oligosacárido**. Dos de los puntos listados ameritan más comentario: en primer lugar, las **variaciones de especie** entre enzimas de procesamiento han adquirido importancia respecto a la producción de glucoproteínas de uso terapéutico por medio de tecnología de DNA recombinante. Por ejemplo, la **eritropoyetina recombinante** (epoetina alfa; EPO) a veces se administra a enfermos que tienen ciertos tipos de anemia crónica, con el fin de estimular la eritropoyesis. La vida media de la EPO en el plasma está influida por la naturaleza de su modelo de glucosilación; ciertos modelos muestran vínculo con vida media breve, lo que limita de modo apreciable su periodo de eficacia terapéutica. De esta manera, es importante recolectar EPO a partir de células huésped que confieren un modelo de glucosilación congruente con una vida media normal en el plasma. En segundo lugar, hay gran interés por analizar las actividades de enzimas procesadoras de glucoproteína en diversos tipos de **células cancerosas**. A menudo se ha encontrado que estas células sintetizan diferentes cadenas de oligosacárido (p. ej., suelen mostrar mayor ramificación) en comparación con las que se sintetizan en células testigo. Esto quizá se deba a células cancerosas que contienen modelos de glucosil transferasas distintos de los que muestran células normales correspondientes, como resultado de activación o represión de gen específico. Las diferencias de las cadenas de oligosacárido podrían afectar las interacciones adhesivas entre células cancerosas y sus células hísticas originales normales, lo que contribuye a metástasis. Si pudiera

CUADRO 47-11 Algunos factores que afectan las actividades de enzimas procesadoras de glucoproteína

Factor	Comentario
Tipo de célula	Diferentes tipos de células contienen distintos perfiles de enzimas de procesamiento.
Enzima previa	Ciertas glucosiltransferasas únicamente actúan sobre una cadena de oligosacárido si otra enzima procesadora ya ha actuado sobre el mismo.[1]
Desarrollo	El perfil celular de enzimas de procesamiento puede cambiar durante el desarrollo si sus genes se activan o desactivan.
Ubicación intracelular	Por ejemplo, si una enzima está destinada para inserción en la membrana del ER (p. ej., HMG-CoA reductasa), puede nunca hallar enzimas procesadoras ubicadas en el aparato de Golgi.
Conformación de proteína	Las diferencias de la conformación de distintas proteínas pueden facilitar u obstaculizar el acceso de enzimas procesadoras a cadenas de oligosacárido idénticas.
Especies	Las mismas células (p. ej., fibroblastos) de diferentes especies pueden mostrar distintos modelos de enzimas de procesamiento.
Cáncer	Las células cancerosas pueden mostrar enzimas de procesamiento diferentes de las de células normales correspondientes.

[1] Por ejemplo, la acción de la α-manosidasa II del aparato de Golgi necesita la acción previa de la GlcNAc transferasa I.

hallarse una correlación entre la actividad de enzimas procesadoras particulares y las **propiedades metastásicas** de células cancerosas, esto podría tener importancia puesto que podría permitir la síntesis de fármacos para inhibir estas enzimas y, de modo secundario, metástasis.

Los genes que codifican para muchas glucosil transferasas ya se han **clonado** y otros se encuentran en estudio. La clonación ha revelado nueva información sobre estructuras tanto de proteína como de gen. Esto último también debe aclarar los mecanismos involucrados en su **control transcripcional**, y se están empleando **estudios de noqueo de gen** para evaluar la importancia biológica de diversas glucosiltransferasas.

La tunicamicina inhibe la N-glucosilación, no así la O-glucosilación

Se sabe que varios compuestos inhiben diversas reacciones involucradas en el procesamiento de glucoproteína. La **tunicamicina**, **deoxinojirimicina** y **swainsonina** son tres de esos agentes. En el cuadro 47-12 se indican las reacciones que inhiben. Estos agentes pueden usarse de manera experimental para inhibir diversas etapas de la biosíntesis de glucoproteínas, y para estudiar los efectos de alteraciones específicas sobre el proceso. Por ejemplo, si se hace crecer a las células en presencia de tunicamicina, no ocurrirá glucosilación de sus glucoproteínas normalmente N-enlazadas. En ciertos casos se ha mostrado que la falta de glucosilación aumenta la susceptibilidad de estas proteínas a proteólisis. La inhibición de la glucosilación no parece tener un efecto constante sobre la secreción de glucoproteínas que se secretan de manera normal. Los inhibidores del procesamiento de glucoproteína listados en el cuadro 47-12 no afectan la biosíntesis de glucoproteínas O-enlazadas. La extensión de las cadenas O-enlazadas se puede impedir mediante GalNAc-benzil. Este compuesto compite con sustratos glucoproteína naturales y, de esta manera, evita el crecimiento de la cadena más allá de GalNAc.

CUADRO 47-12 Tres inhibidores de enzimas involucrados en la *N*-glucosilación de glucoproteínas y sus sitios de acción

Inhibidor	Sitio de acción
Tunicamicina	Inhibe a la GlcNAc-P transferasa, la enzima que cataliza la adición de GlcNAc a dolicol-P, el primer paso en la biosíntesis de oligosacárido-P-P-dolicol
Desoxinojirimicina	Inhibidor de las glucosidasas I y II
Swainsonina	Inhibidor de la manosidasa II

ALGUNAS PROTEÍNAS ESTÁN FIJAS A LA MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEDIO DE ESTRUCTURAS GLUCOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI)

Las glucoproteínas enlazadas a GPI comprenden la tercera clase importante de glucoproteínas. En la figura 47-1 se muestra la estructura de GPI (en ocasiones llamada un "pie pegajoso") involucrada en el enlace de la enzima acetilcolinesterasa (ACh esterasa) a la membrana plasmática del eritrocito. Las proteínas enlazadas a GPI están fijas a la hojuela externa de la membrana plasmática mediante los ácidos grasos del fosfatidilinositol (PI). El PI está enlazado por medio de una porción GlcN a una cadena de glucano que contiene varios azúcares (p. ej., Man, GlcN). A su vez, la cadena de oligosacárido está enlazada mediante fosforiletanolamina en un enlace amida al aminoácido carboxilo terminal de la proteína fija. El centro de casi todas las estructuras de GPI contiene una molécula de fosforiletanolamina, tres residuos Man, una molécula de GlcN, y una molécula de fosfatidilinositol, como sigue:

Etanolamina-fosfo → 6Manα1 →
2Manα1 → 6Manα1 → GlNα1 →
6 — *mio* – inositol –1– fosfolípido

Otros constituyentes se encuentran en muchas estructuras de GPI; por ejemplo, el que se muestra en la figura 47-1 contiene una fosforiletanolamina adicional fija a la parte media de las tres porciones Man del glucano, y un ácido graso extra fijo a GlcN. No se entiende la importancia funcional de estas variaciones entre estructuras. Este tipo de enlace se detectó por vez primera por medio del uso de fosfolipasa C específica para PI (PI-PLC) bacteriana, que se encontró que libera ciertas proteínas de la membrana plasmática de células al dividir el enlace que se indica en la figura 47-1. En el cuadro 47-13 se proporcionan ejemplos de algunas proteínas que se fijan mediante este tipo de enlace. Se han sugerido al menos tres funciones

CUADRO 47-13 ***Algunas* proteínas enlazadas a GPI**

• Acetilcolinesterasa (membrana eritrocítica)
• Fosfatasa alcalina (intestinal, placentaria)
• Factor acelerador de la descomposición (membrana eritrocítica)
• 5'-Nucleotidasa (linfocitos T, otras células)
• Antígeno Thy-1 (cerebro, linfocitos T)
• Glucoproteína de superf cie variable (*Trypanosoma brucei*)

posibles de este tipo de enlace: 1) el ancla de GPI quizá permita gran incremento de la **movilidad** de una proteína en la membrana plasmática en comparación con la que se observa para una proteína que contiene secuencias transmembrana. Esto tal vez no sorprende, dado que el ancla de GPI sólo está fija a la hojuela externa de la bicapa lipídica, de modo que está más libre para difundirse que una proteína fija por medio de ambas hojuelas de la bicapa. La movilidad aumentada puede ser importante en la facilitación de respuestas rápidas a estímulos apropiados. 2) Algunas anclas de GPI quizá se conectan con vías de **transducción de señal**. 3) Se ha mostrado que las estructuras de GPI pueden **dirigir** ciertas proteínas hacia dominios apicales y también dominios basolaterales de la membrana plasmática de ciertas células epiteliales polarizadas. La biosíntesis de anclas de GPI es compleja y empieza en el retículo endoplásmico. El ancla de GPI se monta de manera independiente mediante una serie de reacciones catalizadas por enzima, y luego se transfiere hacia el extremo carboxilo terminal de su proteína aceptora, acompañada por división del péptido hidrofóbico carboxilo terminal preexistente de esa proteína. Este proceso a veces se denomina **glupiación**. Un defecto adquirido en una etapa temprana de la biosíntesis de la estructura del GPI ha quedado implicado en la causa de la **hemoglobinuria paroxística nocturna** (véase más adelante).

SE CREE QUE LOS PRODUCTOS TERMINALES DE LA GLUCACIÓN AVANZADA (AGE) TIENEN IMPORTANCIA EN LA CAUSA DEL DAÑO DE TEJIDO EN LA DIABETES MELLITUS

Glucación se refiere a la fijación no enzimática de azúcares (principalmente glucosa) a grupos amino de proteínas, y a otras moléculas (p. ej., DNA, lípidos). La glucación se distingue de la **glucosilación** porque esta última incluye la fijación de azúcares catalizada por enzima. Cuando la glucosa se une a una proteína, los productos intermedios que se forman comprenden **bases Schiff**. Éstas pueden reordenarse más por medio del **reordenamiento de Amadori** hacia **cetoaminas** (fig. 47-11). La serie general de reacciones se conoce como la **reacción de Maillard**. Estas reacciones participan en el **dorado** de algunos alimentos que sucede con el almacenamiento o el procesamiento (p. ej., calentamiento). Los productos terminales de las reacciones de glucación se llaman **productos terminales de glucación avanzada (AGE)**.

El principal interés médico por los AGE se ha relacionado con que estos productos producen **daño de tejido en la diabetes mellitus**, en la cual la concentración de glucosa en la sangre a menudo está constantemente alta, lo que promueve incremento de la glucación. A intervalos constantes, la magnitud de la glucación es más o menos proporcional a las cifras de glucosa en la sangre. También se ha sugerido que los AGE participan en otros procesos, como el **envejecimiento**.

La glucación de colágeno y otras proteínas en el ECM altera sus propiedades (p. ej., aumenta el **entrecruzamiento de colágeno**). El entrecruzamiento puede llevar a acumulación de diversas proteínas plasmáticas en las paredes de los vasos sanguíneos; en especial, la acumulación de **LDL** puede contribuir a **aterogénesis**. Los AGE parecen estar involucrados en el daño tanto **microvascular** como **macrovascular** en la diabetes mellitus. Asimismo, las células endoteliales y los macrófagos tienen receptores de AGE sobre su superficie. La captación por estos receptores de proteínas glucadas puede activar el factor de transcripción **NF-κB** (cap. 50), lo que genera diversas **citocinas** y **moléculas proinflamatorias**. Así, se cree que los AGE son un contribuidor importante a algunos de los datos patológicos que se encuentran en la diabetes mellitus (fig. 47-12). La **aminoguanidina**, un inhibidor de la formación de AGE, tal vez sea beneficiosa en el decremento de las complicaciones de la diabetes en órganos y tejidos.

La fijación no enzimática de glucosa a la **hemoglobina A** presente en los eritrocitos (esto es, formación de **HbA_{1c}**) ocurre en individuos normales, y está incrementada en sujetos con diabetes mellitus cuyas concentraciones de azúcar en la sangre están altas. La medición del HbA_{1c} se ha convertido en una parte muy importante del **manejo de pacientes con diabetes mellitus** (cap. 6).

LAS GLUCOPROTEÍNAS PARTICIPAN EN MUCHOS PROCESOS BIOLÓGICOS Y EN MUCHAS ENFERMEDADES

Las glucoproteínas tienen muchas funciones (cuadro 47-1); algunas ya se han abordado en este capítulo, y otras se describen en otros

$Hb—NH_2$ + O=C(H)—(H—C—OH) ⇌ Hb—N=C(—H—C—OH) —Reordenamiento de Amadori→ Hb—NH—CH_2—C=O → Reordenamientos adicionales

Glucosa · Hb glucada (base Schiff) · Hb A_{1C} (cetoamina)

FIGURA 47-11 Formación de AGE a partir de glucosa. La glucosa se muestra interactuando con el grupo aminoácidos de la hemoglobina (Hb), lo que forma una base de Schiff. Esto está sujeto al reordenamiento de Amadori, lo cual forma una cetoamina. Pueden ocurrir más reordenamientos, y ello conduce a otros AGE.

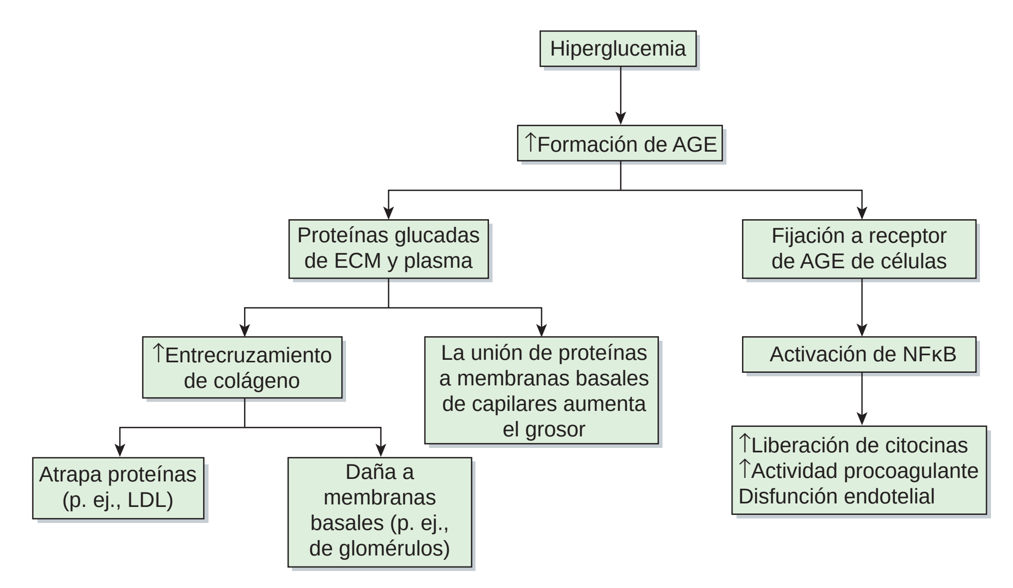


FIGURA 47-12 Algunas consecuencias de la formación de AGE. La hiperglucemia (p. ej., la que sucede en la diabetes mal controlada) da pie a la formación de AGE. Éstos pueden ocurrir en proteínas del ECM o en el plasma. En el ECM pueden causar aumento del entrecruzamiento de colágeno, que puede atrapar proteínas como LDL (lo que contribuye a la aterogénesis) y dañar membranas basales en los riñones y otros sitios. El engrosamiento de las membranas basales también puede suceder por unión de proteínas glucadas a ellas. Los AGE pueden fijarse a receptores de AGE sobre células, lo que activa al NFκB (cap. 50); ello tiene varias consecuencias (como se muestra). En la diabetes mellitus activa no controlada se encuentran daño de las membranas basales renales, engrosamiento de estas membranas en capilares, y disfunción endotelial.

lugares de este libro (p. ej., moléculas de transporte, moléculas inmunitarias y hormonas). Aquí se describe de manera breve su participación en dos procesos específicos: **fecundación** e **inflamación**. Más aún, se resumirán las **bases de diversas enfermedades** que se deben a anormalidades de la síntesis y degradación de glucoproteínas.

Las glucoproteínas son importantes en la fecundación

Para llegar a la membrana plasmática de un oocito, un espermatozoide tiene que cruzar la **zona pelúcida (ZP)**, una envoltura no celular gruesa y transparente que rodea al oocito. La zona pelúcida contiene tres glucoproteínas de interés: ZP1 a 3. Vale la pena notar en particular la ZP3, una glucoproteína O-enlazada que funciona como un receptor para el espermatozoide. Una proteína sobre la superficie del espermatozoide, posiblemente galactosil transferasa, interactúa de modo específico con cadenas de oligosacárido de ZP3; en por lo menos ciertas especies (p. ej., el ratón), esta interacción, mediante emisión de señales transmembrana, induce la **reacción acrosómica**, en la cual se liberan enzimas como las proteasas y la hialuronidasa, y otros contenidos del acrosoma del espermatozoide. La liberación de estas enzimas ayuda al espermatozoide a pasar por la zona pelúcida y llegar a la membrana plasmática (PM) del oocito. En hámsters se ha mostrado que otra glucoproteína, PH-30, tiene importancia tanto en la unión de la PM del espermatozoide a la PM del oocito, como en la fusión subsiguiente de ambas membranas. Estas interacciones permiten al espermatozoide entrar al oocito y, de esta manera, fecundarlo. Quizá sea posible **inhibir la fecundación** al crear medicamentos o anticuerpos que interfieran con las funciones normales de ZP3 y PH-30 y que, de este modo, actuarían como anticonceptivos.

Las selectinas desempeñan funciones clave en la inflamación y en la localización preferente de linfocitos

Los **leucocitos** desempeñan funciones importantes en muchos fenómenos inflamatorios e inmunitarios. Los primeros pasos en muchos de estos fenómenos son interacciones entre leucocitos circulantes y **células endoteliales** antes del paso de los primeros hacia afuera de la circulación. La investigación llevada a cabo para identificar moléculas específicas sobre la superficie de las células involucradas en esas interacciones ha revelado que los leucocitos y las células endoteliales contienen sobre su superficie lectinas específicas, denominadas **selectinas**, que participan en su adherencia intercelular. El cuadro 47-14 resume características de las tres clases principales de selectinas. Las selectinas son proteínas transmembrana, de cadena única, de unión a Ca^{2+}, que contienen varios dominios (fig. 47-13). Sus extremos amino terminal contienen el dominio lectina, que participa en la unión a ligandos de carbohidrato específicos.

Cabe considerar que la adherencia de neutrófilos a células endoteliales de vénulas poscapilares sucede en cuatro etapas (fig. 47-14). La etapa basal inicial ocurre al producir **lentificación o rodamiento** de neutrófilos, lo cual está mediado por selectinas. Participan interacciones entre L-selectina sobre la superficie del neutrófilo, y CD34 y GluCAM-1 u otras glucoproteínas sobre la superficie endotelial. Estas interacciones particulares inicialmente son breves, y la unión general es de afinidad relativamente baja, lo que permite el

CUADRO 47-14 Algunas moléculas involucradas en interacciones entre leucocitos y célula endotelial

Molécula	Célula	Ligandos
Selectinas		
L-selectina	PMN, linf.	CD34, Gly-CAM[1], sialil-Lewis^x, y otros
P-selectina	EC, plaquetas	Ligando glucoproteína de P-selectina-1 (PSGL-1), sialil-Lewis^x, y otros
E-selectina	EC	Sialil-Lewis^x y otros
Integrinas		
LFA-1	PMN, linf.	ICAM-1, ICAM-2
(CD11a/CD18)		
Mac-1	PMN	ICAM-1 y otros
(CD11b/CD18)		
Superfamilia de inmunoglobulina		
ICAM-1	Linf., EC	LFA-1, Mac-1
ICAM-2	Linf., EC	LFA-1
PECAM-1	EC, PMN, linf.	Diversas plaquetas

Fuente: Modificado, con autorización, de Albelda SM, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. FASEB J 1994;8:504.
Abreviaturas: PMN, leucocitos polimorfonucleares; EC, célula endotelial; Linf., linfocitos; CD, agrupación de diferenciación; ICAM, molécula de adherencia intercelular; LFA-1, antígeno vinculado con la función de linfocito-1; PECAM-1, molécula de adherencia entre plaquetas y células endoteliales-1.
[1] Éstos son ligandos para L-selectina de linfocito; los ligandos para L-selectina de neutrófilo al parecer no se han identificado.

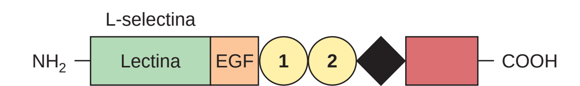


FIGURA 47-13 Diagrama esquemático de la estructura de la L-selectina humana. La porción extracelular contiene un dominio amino terminal homólogo a las lectinas tipo C, y un dominio parecido a factor de crecimiento epidérmico adyacente. Éstos van seguidos por un número variable de módulos parecidos a reguladores del complemento (círculos numerados) y una secuencia transmembrana (rombo negro). Una secuencia citoplásmica corta (rectángulo rojo) está en el carboxilo terminal. Las estructuras de la P y E selectina son similares a las que se muestran, excepto porque contienen más módulos reguladores de complemento. Los números de aminoácidos en L-, P- y E-selectinas, como se deduce a partir de las secuencias de cDNA, son 385, 789 y 589, respectivamente. (Reproducida, con autorización, de Bevilacqua MP, Nelson RM: Selectins. J Clin Invest 1993;91:370.)

rodamiento. Con todo, en el transcurso de esta etapa sucede **activación** de los neutrófilos por diversos mediadores químicos (véase más adelante), lo que ocasiona un cambio de la forma de los neutrófilos y adherencia firme de estas células al endotelio. Otro grupo de **moléculas de adherencia** participa en la adhesión firme, a saber, LFA-1 y Mac-1 sobre los neutrófilos, e ICAM-1 e ICAM-2 sobre células endoteliales. LFA-1 y Mac-1 son integrinas CD11/CD18 (en el cap. 52 se presenta una exposición sobre las integrinas), mientras

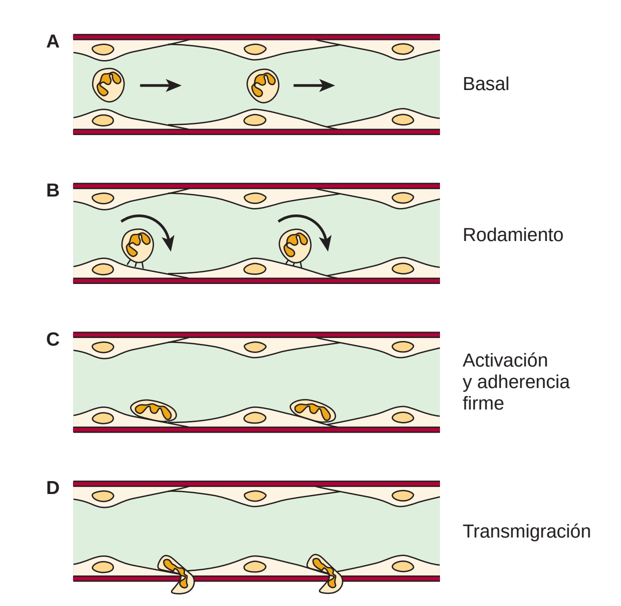


FIGURA 47-14 Diagrama esquemático de las interacciones entre neutrófilos y célula endotelial. **(A)** Condiciones basales: los neutrófilos no se adhieren a la pared del vaso. **(B)** El primer evento es la lentificación o rodamiento de los neutrófilos dentro del vaso (vénula), mediado por selectinas. **(C)** Ocurre activación, lo que hace que los neutrófilos se adhieran firmemente a la superficie de células endoteliales y que adopten una forma aplanada. Esto necesita interacción de integrinas CD18 activadas sobre neutrófilos con ICAM-1 sobre el endotelio. **(D)** Los neutrófilos a continuación migran a través de las uniones de las células endoteliales hacia el tejido intersticial; esto requiere la participación de PECAM-1. La quimiotaxis también está involucrada en esta última etapa. (Reproducida, con autorización, de Albelda SM, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. FASEB J 1994;8;504.)

que ICAM-1 e ICAM-2 son miembros de la superfamilia de inmunoglobulina. La cuarta etapa es la **transmigración** de los neutrófilos a través de la pared endotelial. Para que ocurra esto, los neutrófilos insertan seudópodos en las uniones entre células endoteliales, pasan a través de estas uniones, cruzan la membrana basal, y después están libres para migrar hacia el espacio extravascular. Se ha hallado que la molécula de adherencia entre plaquetas y células endoteliales-1 (PECAM-1) está localizada en las uniones de células endoteliales y, así, tal vez tenga una función en la transmigración. Se ha encontrado que diversas biomoléculas participan en la **activación** de neutrófilos y células endoteliales, entre ellas factor de necrosis tumoral, diversas interleucinas, factor activador de plaquetas (PAF), leucotrieno B_4, y ciertos fragmentos del complemento. Estos compuestos estimulan diversas vías emisoras de señal, lo que se traduce en cambios de la forma y función de la célula, y algunas también son quimiotácticas. Un cambio funcional importante es el **reclutamiento de selectinas** hacia la superficie celular, puesto que en algunos casos las selectinas se almacenan en gránulos (p. ej., en células endoteliales y plaquetas).

Se ha determinado la naturaleza química precisa de algunos de los ligandos involucrados en las interacciones entre selectina y ligando. Las tres selectinas se unen a **oligosacáridos sialilados y fucosilados**, y en particular las tres se unen a **sialil-Lewis^x** (fig. 47-15), una estructura presente tanto en glucoproteínas como en glucolípidos. No se ha establecido si este compuesto es el ligando

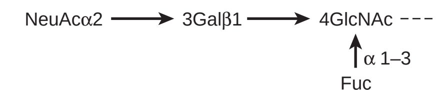


FIGURA 47-15 Representación esquemática de la estructura de sialil-Lewis^x.

real involucrado *in vivo*. Las moléculas sulfatadas, como las sulfatidas (cap. 15), pueden ser ligandos en ciertas circunstancias. Este conocimiento básico se está empleando en intentos por sintetizar compuestos que bloquean interacciones entre selectina y ligando y que, de esta manera, quizá inhiban la respuesta inflamatoria. Los métodos incluyen administración de anticuerpos monoclonales específicos o de análogos de sialil-Lewis^x sintetizados químicamente, ambos de los cuales se unen a selectinas. Las **células cancerosas** suelen mostrar sialil-Lewis^x y otros ligandos de selectina sobre su superficie. Se cree que estos ligandos participan en la invasión y metástasis de células cancerosas.

Ciertas enfermedades dependen de anormalidades de la síntesis de glucoproteínas

El cuadro 47-15 lista varias enfermedades en las cuales son importantes las anormalidades de la síntesis de glucoproteínas. Como se mencionó, muchas células **cancerosas** muestran diferentes perfiles de cadenas de oligosacárido sobre su superficie, algunas de las cuales tal vez contribuyan a metástasis.

CUADRO 47-15 **Algunas enfermedades debidas a —o que involucran— anormalidades de la biosíntesis de glucoproteínas**

Enfermedad	Anormalidad
Cáncer	La ramificación incrementada de glucanos de superficie celular o la presentación de ligandos de selectina puede ser importante en metástasis.
Trastornos congénitos de la glucosilación[1]	Véase el cuadro 47-16.
HEMPAS[2] (OMIM 224100)	Anormalidades de ciertas enzimas (p. ej., manosidasa II y otras) involucradas en la biosíntesis de N-glucanos, en especial las que afectan la membrana eritrocítica.
Deficiencia de adherencia de leucocito, tipo II (OMIM 266265)	Probablemente mutaciones que afectan un transportador de GTP-fucosa ubicado en el aparato de Golgi, que ocasionan fucosilación defectuosa.
Hemoglobinuria paroxística nocturna (OMIM 311770)	Defecto adquirido de la biosíntesis de las estructuras de GPI[3] del factor acelerador de la descomposición (DAF) y CD59.
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	Deficiencia de la GlcNAc fosfotransferasa, que se traduce en dirección anormal de ciertas enzimas lisosómicas.

[1] El número de OMIM para el trastorno congénito de la glucosilación tipo I a es 212065.
[2] Multinuclearidad eritroblástica hereditaria con un resultado positivo de una prueba de hemólisis en suero acidificado (anemia diseritropoyética congénita tipo II). Ésta es una forma relativamente leve de anemia. Refleja al menos en parte la presencia en las membranas eritrocíticas de diversas glucoproteínas con cadenas de N-glucano anormales, que contribuyen a la susceptibilidad a la lisis.
[3] Glucosilfosfatidilinositol.

Los **trastornos congénitos de la glucosilación (CDG)** son un grupo de patologías de considerable interés actual. En el cuadro 47-16 se resumen las principales características de estas enfermedades.

La **deficiencia de adherencia de leucocitos (LAD) II** es una rara enfermedad que probablemente se debe a mutaciones que afectan la actividad de un transportador de GTP-fucosa localizado en el aparato de Golgi. Puede considerarse un trastorno congénito de la glucosilación. La falta de ligandos fucosilados para selectinas lleva a una notoria aminoración del rodamiento de neutrófilos. Los enfermos sufren infecciones bacterianas recurrentes, que ponen en peligro la vida, y retraso psicomotor y mental. La enfermedad parece mostrar respuesta a la fucosa por vía oral.

La **multinuclearidad eritroblástica hereditaria con resultado positivo de una prueba de hemólisis en suero acidificado (HEMPAS)** —anemia diseritropoyética congénita tipo II— es otro trastorno en el cual se cree que participan anormalidades en el procesamiento de N-glucanos. Se ha afirmado que algunos casos se deben a defectos de la a alfa-manosidasa II.

La **hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH)** es una anemia leve adquirida que se caracteriza por la presencia de hemoglobina en la orina debido a hemólisis de eritrocitos, en particular durante el sueño. Este último fenómeno quizá refleje una reducción leve del pH plasmático durante el sueño, lo que aumenta la susceptibilidad a lisis por el sistema de complemento (cap. 50). El defecto básico en la PNH es la adquisición de mutaciones somáticas en el gen *PIG-A* (que significa fosfatidilinositol glucano clase A) de ciertas células hematopoyéticas. El producto de este gen parece ser la enzima que enlaza la glucosamina al fosfatidilinositol en la estructura del GPI (fig. 47-1). De este modo, las proteínas que están fijas por medio de un enlace de GPI son deficientes en la membrana eritrocítica. Dos proteínas despiertan especial interés: el **factor acelerador de la descomposición (DAF)** y otra proteína designada CD59. En

CUADRO 47-16 **Principales características de los trastornos congénitos de la glucosilación**

• Trastornos autosómicos recesivos
• Trastornos de múltiples sistemas que probablemente no se han reconocido en el pasado
• Por lo general afectan el sistema nervioso, lo que da por resultado retraso psicomotor y otras características
• Los trastornos tipo I se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., fosfomanomutasa-2 [PMN-2], que origina CDG Ia) involucradas en la síntesis de dolicol-P-P-oligosacárido
• Los trastornos tipo II se deben a mutaciones en genes que codifican para enzimas (p. ej., GlcNAc transferasa-2, que causa CDG IIa) involucrada en el procesamiento de cadenas de N-glucano
• Se han reconocido al menos 15 trastornos distintos
• El enfoque isoeléctrico de la transferrina es una prueba bioquímica útil para ayudar en el diagnóstico de estas enfermedades; el truncado de las cadenas de oligosacárido de esta proteína altera su modelo de enfoque isoeléctrico
• La manosa por vía oral ha resultado beneficiosa en el tratamiento de CDG Ia

Abreviatura: CDG, trastorno congénito de la glucosilación.

circunstancias normales interactúan con ciertos componentes del sistema de complemento (cap. 50) para impedir las acciones hemolíticas de este último. Aun así, cuando son deficientes, el sistema de complemento puede actuar sobre la membrana eritrocítica y dar por resultado hemólisis. Un anticuerpo monoclonal contra C5, un componente terminal del sistema de complemento, ha resultado útil en el manejo de PNH al inhibir la cascada de complemento. La PNH se puede diagnosticar de manera relativamente simple, dado que los eritrocitos son considerablemente más sensibles a hemólisis en suero normal acidificado a pH de 6.2 (prueba de Ham); el sistema de complemento se activa en estas condiciones, pero las células normales no quedan afectadas. En la figura 47-16 se resume la causa de la PNH.

El estudio de las **distrofias musculares congénitas (CMD)** ha revelado que algunas de ellas (p. ej., el síndrome de Walker-Warburg, la enfermedad músculo-ojo-cerebro, la CMD de Fukuyama) son el resultado de defectos de la síntesis de glucanos en la proteína α-distroglucano (α-DG). Esta proteína sobresale desde la membrana de superficie de las células musculares, e interactúa con la laminina-2 (merosina) en la lámina basal (fig. 49-11). Si los glucanos de α-DG no se forman de modo correcto (como resultado de mutaciones en genes que codifican para ciertas glucosiltransferasas), esto origina interacción defectuosa de α-DG con la laminina, que a su vez conduce a la aparición de una CMD.

La **artritis reumatoide** muestra vínculo con una alteración de la glucosilación de moléculas de inmunoglobulina G (IgG) circulantes (cap. 50), de manera que carecen de lactosa en sus regiones Fc y terminan en GlcNAc. La **proteína de unión a manosa** (MBP, que no debe confundirse con el receptor de manosa 6-P), una lectina C sintetizada por las células del hígado y secretada hacia la circulación, se une a manosa, GlcNAc y algunos otros azúcares. Así, puede unirse a moléculas de agalactosil IgG, que luego activan el sistema de complemento (cap. 50), lo que contribuye a inflamación crónica en las membranas sinoviales de articulaciones.

La **MBP** también puede unirse a los azúcares anteriores cuando están presentes sobre la superficie de ciertas bacterias, hongos y virus, lo que prepara a estos agentes patógenos para opsonización o para destrucción por el sistema de complemento. Éste es un ejemplo de **inmunidad innata**, que no involucra inmunoglobulinas o linfocitos T. La deficiencia de esta proteína en lactantes de corta edad como resultado de mutación los hace muy susceptibles a **infecciones recurrentes**.

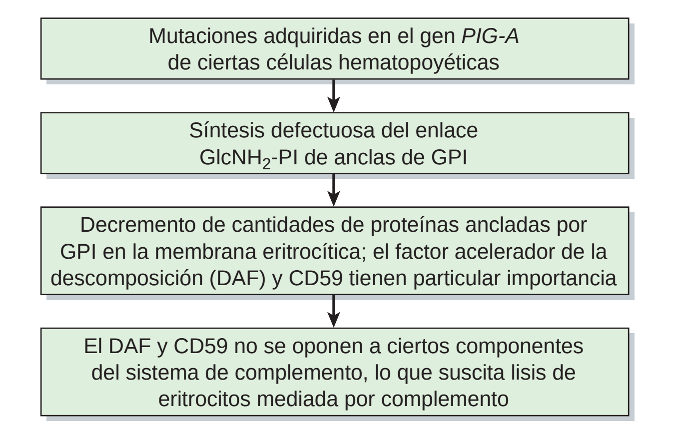


FIGURA 47-16 Esquema de la causa de la hemoglobina paroxística nocturna (OMIM 311770).

La enfermedad de célula I se produce por dirección defectuosa de enzimas lisosómicas

Como se indicó, Man 6-P sirve como un marcador químico para dirigir ciertas enzimas lisosómicas a ese organelo. El análisis de fibroblastos en cultivo derivados de individuos con enfermedad de célula I (célula de inclusión) tuvo una participación importante en revelar la función anterior de Man 6-P. La enfermedad de célula I es una enfermedad rara caracterizada por retraso psicomotor intenso y progresivo, y diversos signos físicos; la muerte a menudo sucede durante el primer decenio de la vida. Se halló que las células en cultivo de sujetos con enfermedad de célula I carecen de casi todas las enzimas lisosómicas normales; de este modo, los lisosomas acumulan muchos tipos diferentes de moléculas no degradadas, lo que forma cuerpos de inclusión. Se observó que las muestras de plasma de pacientes que presentan la enfermedad contienen actividades muy altas de enzimas lisosómicas; esto sugirió que las enzimas se estaban sintetizando pero que no estaban llegando a su destino intracelular apropiado, y en su lugar se estaban secretando. Se notó que las células en cultivo de pacientes que tenían la enfermedad captaban enzimas lisosómicas añadidas de manera exógena, obtenidas a partir de individuos normales, lo que indicó que las células contenían un receptor normal sobre su superficie para captación endocítica de enzimas lisosómicas. Además, este dato sugirió que las enzimas lisosómicas de sujetos con enfermedad de célula I **podrían carecer de un marcador de reconocimiento**. Estudios adicionales revelaron que las enzimas lisosómicas de individuos normales portaban el marcador de reconocimiento Man 6-P antes descrito, que interactuó con una proteína intracelular específica, el receptor de Man 6-P. A continuación se encontró que las células en cultivo de pacientes con enfermedad de célula I tenían **deficiencia** de la actividad de la **GlcNAc fosfotransferasa** ubicada en *cis*-Golgi, lo que explica de qué modo sus enzimas lisosómicas no adquirieron el marcador Man 6-P. Ahora se sabe que hay **dos proteínas receptoras de Man 6-P**, una de masa molecular alta (225 kDa) y una de masa molecular baja (46 kDa). Estas proteínas son **lectinas**, **y reconocen Man 6-P**. La primera es independiente de catión y se une también al IGF-II (de ahí que se denomine el receptor de Man 6-P–IGF-II), mientras que la segunda depende de catión en algunas especies, y no se une a IGF-II. Parece ser que ambos receptores funcionan en la clasificación intracelular de enzimas lisosómicas hacia vesículas cubiertas con clatrina, lo que ocurre en el *trans*-Golgi después de síntesis de Man 6-P en el *cis*-Golgi. Estas vesículas a continuación abandonan el aparato de Golgi y se fusionan con un compartimiento prelisosómico. El **pH bajo** en este compartimiento hace que las enzimas lisosómicas se **disocien** de sus receptores y luego entren en lisosomas. Los receptores se reciclan y se vuelven a emplear. Sólo un receptor de menor tamaño funciona en la endocitosis de enzimas lisosómicas **extracelulares**, que es una vía menor para la ubicación lisosómica. No todas las células usan el receptor de Man 6-P para dirigir sus enzimas lisosómicas (p. ej., los hepatocitos emplean una vía diferente pero indefinida); más aún, no todas las enzimas lisosómicas

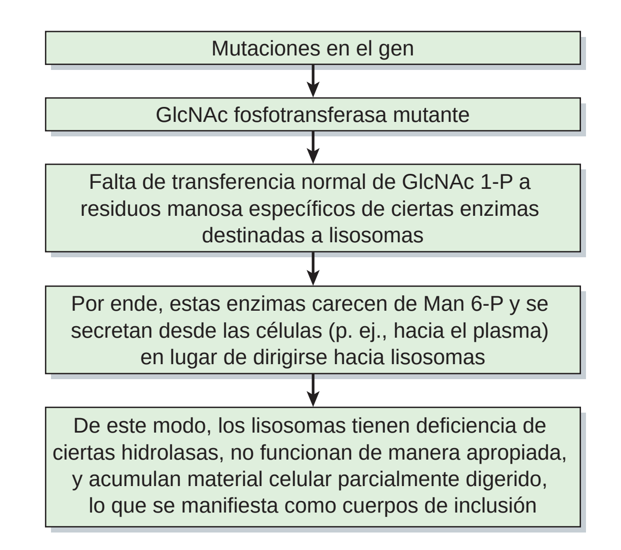


FIGURA 47-17 Resumen de la causa de la enfermedad de célula I (OMIM 252500).

se dirigen mediante este mecanismo. De esta manera, las investigaciones bioquímicas de la enfermedad de célula I no sólo dieron pie a la dilucidación de su fundamento, sino que también contribuyeron de modo importante al conocimiento de cómo las proteínas recién sintetizadas se dirigen hacia organelos específicos, en este caso del lisosoma. En la figura 47-17 se resume la causa de la enfermedad de célula I.

La **seudopolidistrofia de Hurler** es otra enfermedad genética estrechamente relacionada con la enfermedad de célula I. Es una **enfermedad más leve**, y los enfermos pueden sobrevivir hasta la adultez. Los estudios han revelado que la **GlcNAc fosfotransferasa** involucrada en la enfermedad de célula I tiene varios dominios, entre ellos un dominio catalítico y uno que reconoce de manera específica enzimas lisosómicas e interactúa con las mismas. Se ha propuesto que el defecto en la seudopolidistrofia de Hurler yace en este último dominio, y la retención de cierta actividad catalítica da por resultado una enfermedad más leve.

Las deficiencias genéticas de hidrolasas lisosómicas de glucoproteínas suscitan enfermedades como la α-manosidosis

Las glucoproteínas, al igual que casi todas las otras biomoléculas, pasan por síntesis y degradación (es decir, recambio). La degradación de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas comprende una batería de hidrolasas lisosómicas, entre ellas α-neuraminidasa, β-galactosidasa, β-hexosaminidasa, α- y β-manosidasas, α-*N*-acetilgalactosaminidasa, α-fucosidasa, endo- β-*N*-acetilglucosaminidasa, y aspartilglucosaminidasa. En el pie de la figura 47-5 se indican los sitios de acción de las dos últimas enzimas. Puede haber defectos de las actividades de estas enzimas determinados por mecanismos genéticos, lo que produce degradación anormal de glucoproteínas. La acumulación en los tejidos de esas glucoproteínas degradadas puede llevar a varias enfermedades. Entre las mejor reconocidas de éstas figuran la manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria y enfermedad de Schindler, que se deben, respectivamente, a deficiencias de α-manosidasa, α-fucosidasa, α-neuraminidasa,

CUADRO 47-17 Principales características de algunas enfermedades[1] debidas a deficiencias de glucoproteína hidrolasas[2]

- Por lo general suscitan retraso mental u otras anormalidades neurológicas, y en algunos trastornos hay facciones toscas o visceromegalia (o ambas)
- La gravedad varía desde leve hasta rápidamente progresiva
- Herencia autosómica recesiva
- Pueden mostrar distribución étnica (p. ej., la aspartilglucosaminuria es frecuente en Finlandia)
- En algunos trastornos la microscopia revela vacuolización de células
- Presencia de productos de degradación anormales (p. ej., oligosacáridos que se acumulan debido a la deficiencia de enzima) en la orina, detectable mediante TLC; puede caracterizarse por medio de GLC-MS
- El diagnóstico definitivo se hace mediante valoración de la enzima apropiada, a menudo empleando leucocitos
- Posibilidad de diagnóstico prenatal por medio de valoraciones de enzimas apropiadas
- No hay un tratamiento definitivo

[1]α-Manosidosis, β-manosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartilglucosaminuria, y enfermedad de Schindler.
[2]Números de OMIM: alfa-manosidosis, 248500; β-manosidosis, 248510; fucosidosis, 230000; sialidosis, 256550; aspartilglucosaminuria, 208400; enfermedad de Schindler, 609241.

aspartilglucosaminidasa y α-*N*-acetilgalactosaminidasa. Estas enfermedades, que son relativamente raras, tienen diversas manifestaciones; algunas de sus características principales se listan en el cuadro 47-17. El hecho de que los individuos afectados por estos trastornos muestran signos atribuibles al **sistema nervioso central** refleja la importancia de las glucoproteínas en el desarrollo y la función normal de ese sistema.

LOS GLUCANOS DE GLUCOCONJUGADOS PARTICIPAN EN LA UNIÓN DE VIRUS, BACTERIAS Y CIERTOS PARÁSITOS A CÉLULAS DE SER HUMANO

Una característica principal de los glucanos, y una que explica muchas de sus acciones biológicas, es que se **unen** de modo específico a diversas moléculas, como proteínas y otros glucanos. Un reflejo de esto es su capacidad para unirse a ciertos virus, muchas bacterias y algunos parásitos.

El **virus de la influenza A** se une a moléculas receptoras de glucoproteína de superficie celular que contienen NeuAc por medio de una proteína llamada hemaglutinina **(H)**. También posee una **neuraminidasa (N)** que tiene una participación clave en permitir la elución de progenie recién sintetizada desde células infectadas. Si se inhibe este proceso, la diseminación de los virus disminuye de manera notoria. Ahora se encuentran disponibles inhibidores de esta enzima (p. ej., zanamivir, oseltamivir) para uso en el tratamiento de sujetos con influenza. Los virus de la influenza se clasifican de acuerdo con el tipo de hemaglutinina y neuraminidasa que poseen. Hay al menos 16 tipos de hemaglutinina y nueve de neuraminidasa. Así, el virus **de la influenza aviaria** se clasifica como **H5N1**. En vista de la posibilidad de que ocurra una pandemia, hay gran interés en el

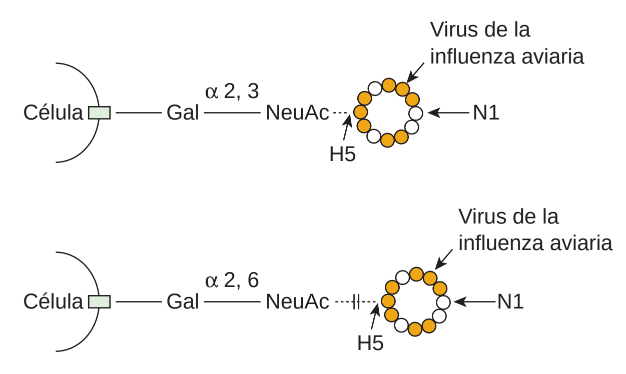


FIGURA 47-18 Representación esquemática de la unión del virus de la influenza aviaria (H5N1) a una célula epitelial respiratoria. La hemaglutinina (HA) viral media su entrada a las células al unirse a un glucano sobre la superficie celular que termina por el disacárido galactosa → α 2,3-NeuAc. No se unirá a un glucano que termina por galactosa → α 2,6-NeuAc, que es el tipo que se encuentra de manera predominante en las vías respiratorias de ser humano. Si la HA viral se alterara por mutación y adquiriera la capacidad de unirse a este último disacárido, podría incrementar de manera considerable su patogenicidad para seres humanos. (H5, hemaglutinina tipo 5; N1, neuraminidasa tipo 1.)

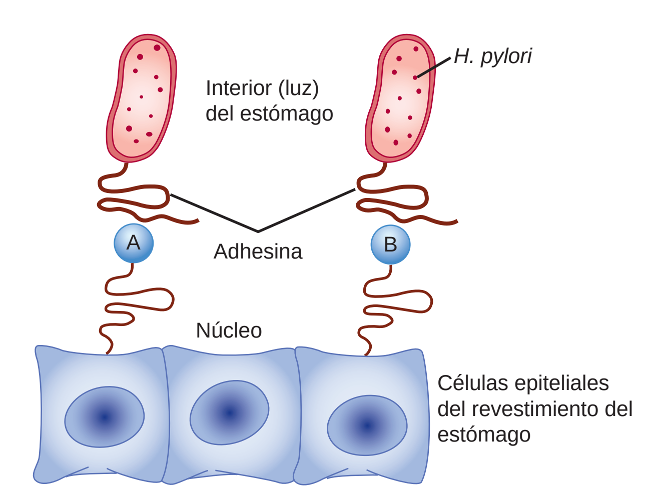


FIGURA 47-19 Fijación de *Helicobacter pylori* a células epiteliales del estómago. La adhesina, una proteína presente en la cola de *H. pylori*, interactúa con dos glucanos diferentes (estructuras que se muestran abajo) presentes en glucoproteínas sobre la superficie de células epiteliales gástricas. Esto proporciona un sitio de fijación para la bacteria. Luego libera moléculas, como amoniaco, que contribuyen a iniciar la ulceración péptica. (A) NeuAcα2,3Galβ1,4—proteína (neuraminil-galactosa); (B) Fucα1,2Galβ1,3GlcNAc— proteína (sustancia Lewis[B]).

modo en que este virus se fija a las células de ser humano. Se ha hallado que el virus se fija de preferencia a glucanos terminados por el disacárido **galactosa → α 2,3-NeuAc** (fig. 47-18). Como quiera que sea, el disacárido predominante que termina glucanos en las células de las vías respiratorias de ser humano es **galactosa → α 2,6-NeuAc**. Si sucede un cambio en la estructura de la hemaglutinina viral (debido a mutación) que permita que se una a este último disacárido, esto podría incrementar mucho la infectividad potencial del virus, lo que posiblemente ocasionaría consecuencias muy graves.

El **virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1)**, que la mayoría cree que es la causa del SIDA, se fija a las células mediante una de sus glucoproteínas de superficie (gp120) y usa otra glucoproteína de superficie (gp41) para fusionarse con la membrana de la célula huésped. Durante la infección por VIH-1 se producen **anticuerpos** contra gp120, y ha habido interés por emplear la proteína como una vacuna. Un problema importante con este método es que la estructura de gp120 puede cambiar con relativa rapidez, lo que permite al virus escapar de la actividad neutralizante de anticuerpos dirigidos contra ella.

Se cree que ***Helicobacter pylori*** es la principal causa de **úlceras pépticas**. Se ha mostrado en estudios que esta bacteria se une a por lo menos dos glucanos diferentes que se encuentran sobre la superficie de células epiteliales en el estómago (fig. 47-19). Esto permite que establezca un sitio de fijación estable en el revestimiento del estómago, y se cree que la secreción subsiguiente de amoniaco y otras moléculas por la bacteria inicia la ulceración.

De manera similar, también se sabe que muchas **bacterias que dan por resultado diarrea** se fijan a las células de superficie del intestino por medio de glucanos presentes en glucoproteínas o glucolípidos.

La causa básica de la **fibrosis quística** son mutaciones en el gen que codifica para CFTR (caps. 40 y 54). Un problema importante en esta enfermedad son las infecciones pulmonares recurrentes por bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*. En la fibrosis quística ocurre deshidratación relativa de las secreciones respiratorias por cambios de la composición de electrólitos en las vías respiratorias como resultado de mutaciones en el CFTR. Las bacterias como *P. aeruginosa* se fijan a las cadenas de azúcar de mucinas, y encuentran en el ambiente deshidratado en los bronquiolos un sitio favorable en el cual multiplicarse.

La fijación de ***Plasmodium falciparum*** —uno de los tipos de plasmodios que originan **paludismo**— a células de ser humano está mediada por un GPI presente sobre la superficie del parásito.

Varios investigadores están **analizando las superficies de virus**, **bacterias**, **parásitos** y **células de ser humano** para determinar cuáles moléculas participan en la fijación. Tiene importancia definir la naturaleza exacta de las interacciones entre organismos invasores y células huésped, dado que se espera que esto lleve a la creación de fármacos y otros agentes que inhibirán de modo específico la fijación.

EL RITMO DE LA INVESTIGACIÓN EN GLUCÓMICA SE ESTÁ ACELERANDO

En el pasado, la falta de disponibilidad de técnicas idóneas para determinar las estructuras de glucanos obstaculizó la investigación sobre glucoconjugados. De cualquier manera, ahora se dispone de técnicas analíticas apropiadas (algunas de las cuales se listan en el cuadro 47-3), al igual que de nuevas y potentes técnicas genéticas (p. ej., deleciones y noqueos usando moléculas de RNAi). Es seguro que la investigación en glucómica no sólo proporcionará muchísima información estructural sobre glucoconjugados, lo que ayudará a revelar “el código de azúcar de la vida”, sino que también descubrirá muchas interacciones biológicas nuevas e importantes que dependen de azúcar, y proporcionará blancos para terapias farmacológicas y de otros tipos.

RESUMEN

- Las glucoproteínas son proteínas ampliamente distribuidas —con diversas funciones— que contienen una o más cadenas de carbohidrato enlazadas de modo covalente.
- Los componentes carbohidrato de una glucoproteína varían desde 1% hasta más de 85% de su peso, y pueden tener estructura simple o muy compleja. Ocho azúcares se encuentran principalmente en las cadenas de azúcar de glucoproteínas de ser humano: xilosa, fucosa, galactosa, glucosa, manosa, *N*-acetilgalactosamina, *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilneuramínico.
- Al menos algunas de las cadenas de oligosacárido de las glucoproteínas codi can información biológica; también son importantes para las glucoproteínas en la modulación de su solubilidad y viscosidad, en la protección de las glucoproteínas contra proteólisis, y en sus acciones biológicas.
- Las estructuras de cadenas de oligosacárido se pueden elucidar mediante cromatografía de gas-líquido, espectrometría de masa y espectrometría con NMR de alta resolución.
- Las glucosidasas hidrolizan enlaces especí cos en oligosacáridos, y se emplean para explorar tanto las estructuras como las funciones de las glucoproteínas.
- Las lectinas son proteínas de unión a carbohidrato involucradas en la adherencia celular y en muchos otros procesos biológicos.
- Las principales clases de glucoproteínas son O-enlazadas (que involucran un OH de serina o treonina), N-enlazadas (que incluyen el N del grupo amida de la asparagina), y enlazadas a glucosilfosfatidilinositol (GPI).
- Las mucinas son una clase de glucoproteínas O-enlazadas que están distribuidas sobre la super cie de células epiteliales de las vías respiratorias, el tubo digestivo y las vías reproductoras.
- El retículo endoplásmico y el aparato de Golgi desempeñan una función importante en reacciones de glucosilación involucradas en la biosíntesis de glucoproteínas.
- Las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas O-enlazadas se sintetizan por medio de la adición por pasos de azúcares donados por azúcares nucleótido en reacciones catalizadas por glucoproteína glucosiltransferasas especí cas individuales.
- En contraste, la síntesis de glucoproteínas N-enlazadas involucra un dolicol-P-P-oligosacárido especí co y diversas glucosiltransferasas y glucosidasas. Dependiendo de las enzimas y de las proteínas precursoras en un tejido, puede sintetizar oligosacáridos N-enlazados tipos complejo, híbrido, o con alto contenido de manosa.
- Las glucoproteínas están implicadas en muchos procesos biológicos. Por ejemplo, se ha encontrado que tienen funciones clave en la fecundación y la in amación.
- Se han reconocido varias enfermedades que comprenden anormalidades de la síntesis y degradación de glucoproteínas. Las glucoproteínas también participan en muchas otras enfermedades, entre ellas in uenza, SIDA, artritis reumatoide, brosis quística y úlcera péptica.
- Es probable que los avances en el nuevo campo de la glucómica proporcionen mucha información nueva sobre las funciones de azúcares en la salud y la enfermedad, y que indiquen también blancos para farmacoterapia y otros tipos de terapias.

REFERENCIAS

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier Saunders, 2006. (Chapter 25 contains a good discussion of glycated hemoglobin).

Chandrasekeran A, Srinivasan A, Raman R et al: Glycan topology determines human adaptation of avian H5N1 virus hemaglutinin. Nat Biotechnology 2008;26:107.

Freeze HH: Congenital disorders of glycosylation: CDG-I, CDG-II, and beyond. Curr Mol Med 2007;7:389.

Helenius A, Aebi M: Roles of N-linked glycans in the endoplasmic reticulum. Annu Rev Biochem 2004;73:1019.

Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. Annu Rev Biochem 1985;54:631.

Michele DE, Campbell KP: Dystrophin-glycoproteins complex: post-translational processing and dystroglycan function. J Biol Chem 2003;278:15457.

Ohtsubo K, Marth JD: Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. Cell 2006;126:855.

Pilobelli KT, Mahal LK: Deciphering the glycocode: the complexity and analytical challenge of glycomics. Curr Opin Chem Biol 2007;11:300.

Ramasamy R et al: Receptor for advanced glycation end products: fundamental roles in the inflammatory response: winding the way to the pathogenesis of endothelial dysfunction and atherosclerosis. Ann NY Acad Sci 2008;1126:7.

Roseman S: Reflections on glycobiology. J Biol Chem 2001; 276:41527.

Schachter H: The clinical relevance of glycobiology. J Clin Invest 2001;108:1579.

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (Various chapters in this text and its up-dated online version [see References for Chapter 1] give in-depth coverage of topics such as I-cell disease and disorders of glycoprotein degradation.)

Sharon N, Lis H: History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. Glycobiology 2004;14:53R.

Taylor ME, Drickamer K: *Introduction to Glycobiology.* Oxford University Press, 2003.

Varki A et al (editors): *Essentials of Glycobiology.* 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.

Von Itzstein M, Plebanski M, Cooke RM, Coppel RL: Hot, sweaty and sticky: the glycobiology of *Plasmodium falciparum*. Trends Parasitol 2008; 24:210.

Werz DB, Seeberger PH: Carbohydrates are the next frontier in pharmaceutical research. Chemistry 2005; 11:3194.

C A P Í T U L O

48

La matriz extracelular

Robert K. Murray, MD, PhD y Frederick W. Keeley, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Casi todas las células de mamífero están localizadas en tejidos donde están rodeadas por una **matriz extracelular (ECM)** compleja que suele denominarse **"tejido conjuntivo"**. La ECM contiene tres clases principales de biomoléculas: 1) las **proteínas estructurales**, colágeno, elastina y fibrilina-1; 2) ciertas **proteínas especializadas**, como fibronectina y laminina, y 3) **proteoglucanos**, cuya naturaleza química se describe más adelante. Se ha encontrado que la ECM participa en muchos procesos normales y patológicos; por ejemplo, tiene funciones importantes en el desarrollo, en estados inflamatorios y en la diseminación de células cancerosas. La afección de ciertos componentes de la ECM se ha documentado tanto en la **artritis reumatoide** como en la **osteoartritis**. Varias enfermedades (p. ej., osteogénesis imperfecta y varios tipos del síndrome de Ehlers-Danlos) se deben a alteraciones genéticas de la síntesis de colágeno. Componentes específicos de proteoglucanos (los glucosaminoglucanos; GAG) están afectados en el grupo de trastornos genéticos conocidos como las **mucopolisacaridosis**. Ocurren cambios en la ECM durante el **proceso de envejecimiento**. En este capítulo se describen las características bioquímicas básicas de las tres clases principales de biomoléculas que se encuentran en la ECM, y se ilustra su importancia biomédica. También se consideran brevemente las principales características bioquímicas de dos formas especializadas de ECM —hueso y cartílago— y de varias enfermedades que las afectan.

EL COLÁGENO ES LA PROTEÍNA MÁS ABUNDANTE EN EL MUNDO ANIMAL

El **colágeno**, el principal componente de casi todos los tejidos conjuntivos, constituye alrededor de 25% de la proteína de mamíferos. Proporciona un armazón extracelular para todos los animales metazoarios, y existe en casi todos los tejidos de animales. En tejidos de ser humano se han identificado al menos 28 tipos de colágeno constituidos por más de 30 cadenas polipeptídicas distintas (cada una codificada por un gen separado). Aun cuando varios de ellos sólo están presentes en proporciones pequeñas, pueden tener funciones importantes en la determinación de las propiedades físicas de tejidos específicos. Además, varias proteínas (p. ej., el componente C1q del sistema de complemento, proteínas surfactantes pulmonares SPA y SP-D) que no se clasifican como colágenos tienen dominios parecidos a colágeno en su estructura; estas proteínas a veces se llaman "colágenos no colágenos".

El cuadro 48-1 resume la información sobre muchos de los tipos de colágenos que se encuentran en tejidos de ser humano; la nomenclatura usada para designar tipos de colágeno y sus genes se describe en el pie de cuadro.

En el cuadro 48-2, los tipos de colágeno listados en el cuadro 48-1 se subdividen en diversas clases con base principalmente en las estructuras que forman. En este capítulo se abordan de manera específica los **colágenos I y II** formadores de fibrillas, los principales colágenos de la piel y el hueso, y del cartílago, respectivamente. Sin embargo, se mencionarán algunos de los otros colágenos.

EL COLÁGENO TIPO I ESTÁ COMPUESTO DE UNA ESTRUCTURA DE TRIPLE HÉLICE Y FORMA FIBRILLAS

Todos los tipos de colágeno tienen una **estructura de triple hélice**. En algunos colágenos, toda la molécula es de triple hélice, mientras que en otros la triple hélice puede incluir sólo una fracción de la estructura. El colágeno maduro tipo I, que contiene unos 1 000 aminoácidos, pertenece al primer tipo; en él, cada subunidad polipeptídica o cadena alfa forma una hélice de poliprolina siniestra de tres residuos por cada vuelta (fig. 48-1). Tres de estas cadenas alfa después forman una **superhélice diestra**, lo que forma una molécula parecida a varilla de 1.4 nm de diámetro y de alrededor de 300 nm de largo. Una característica notoria del colágeno es la presencia de residuos **glicina** en cada tercera posición de la parte de triple hélice de la cadena alfa. Esto es necesario porque la glicina es el único aminoácido lo bastante pequeño como para adaptarse en el espacio limitado disponible en el centro de la triple hélice. Esta **estructura repetitiva**, representada como $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$, es un requerimiento absoluto para la formación de la triple hélice. Mientras que X y Y pueden ser cualquier otro aminoácido, aproximadamente 100 de las posiciones X son prolina, y alrededor de 100 de las posiciones son hidroxiprolina. La prolina y la hidroxiprolina confieren **rigidez** a la molécula de colágeno. La **hidroxiprolina** se forma por medio de la hidroxilación postraduccional de residuos prolina unidos a péptido, catalizada por la enzima **prolil hidroxilasa**, cuyos cofactores son **ácido ascórbico** (vitamina C) y α-cetoglutarato. Las lisinas en la posición Y también se pueden modificar luego de la traducción hacia hidroxilisina mediante la acción de la **lisil hidroxilasa**, una enzima con cofactores similares. Algunas de estas hidroxilisinas se pueden modificar más por medio de la adición de galactosa o galactosilglucosa mediante un **enlace O-glucosídico**, un sitio de glucosilación que es singular para el colágeno.

CUADRO 48-1 Tipos de colágeno y sus genes[1]

Tipo	Genes	Tejido
I	*COL1A1, COL1A2*	Casi todos los tejidos conjuntivos, incluso hueso
II	*COL2A1*	Cartílago, humor vítreo
III	*COL3A1*	Tejidos conjuntivos extensibles, como la piel, los pulmones y el sistema vascular
IV	*COL4A1–COL4A6*	Membranas basales
V	*COL5A1–COL5A3*	Componente menor en tejidos que contienen colágeno I
VI	*COL6A1–COL6A3*	Casi todos los tejidos conjuntivos
VII	*COL7A1*	Fibrillas de fijación
VIII	*COL8A1–COL8A2*	Endotelio, otros tejidos
IX	*COL9A1–COL9A3*	Tejidos que contienen colágeno II
X	*COL10A1*	Cartílago hipertrófico
XI	*COL11A1, COL11A2, COL2A1*	Tejidos que contienen colágeno II
XII	*COL12A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XIII	*COL13A1*	Muchos tejidos
XIV	*COL14A1*	Tejidos que contienen colágeno I
XV	*COL15A1*	Muchos tejidos
XVI	*COL16A1*	Muchos tejidos
XVII	*COL17A1*	Hemidesmosomas cutáneos
XVIII	*COL18A1*	Muchos tejidos (p. ej., hígado, riñones)
XIX	*COL19A1*	Células de rabdomiosarcoma

Fuente: Adaptado de Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews, www.annualreviews.org. Reimpreso con autorización.

[1] Los tipos de colágeno se designan mediante números romanos. Las cadenas de procolágeno constituyentes, llamadas cadenas proα, se numeran empleando números arábigos, seguidos por el tipo de colágeno entre paréntesis. Por ejemplo, el procolágeno tipo I se monta a partir de dos cadenas proα1 (I) y una proα2 (I). De este modo, es un heterotrímero, mientras que el procolágeno tipo 2 se monta a partir de tres cadenas proα1 (II) y, de esta manera, es un homotrímero. Los genes que codifican para colágeno se nombran de acuerdo con el tipo de colágeno, escrito en números arábigos para el símbolo del gen, seguido por una A y el número de la cadena proα para la cual codifica. Así, los genes *COL1A1* y *COL1A2* codifican para las cadenas α1 y α2 del colágeno tipo I, respectivamente. Ahora se han reconocido por lo menos 28 tipos de colágeno.

CUADRO 48-2 Clasificación de los colágenos, con base principalmente en las estructuras que forman

Clase	Tipo
Formador de fibrillas	I, II, III, V y XI
Parecido a red	IV, VIII, X
FACIT[1]	IX, XII, XIV, XVI, XIX
Filamentos con forma de rosario	VI
Fibrillas de fijación	VII
Dominio transmembrana	XIII, XVII
Otros	XV, XVIII

Fuente: Basado en Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright © 1995 por Annual Reviews. Reimpreso con autorización.

[1] FACIT = colágenos asociados a fibrilla con triples hélices interrumpidas. Se han reconocido colágenos adicionales a los antes listados.

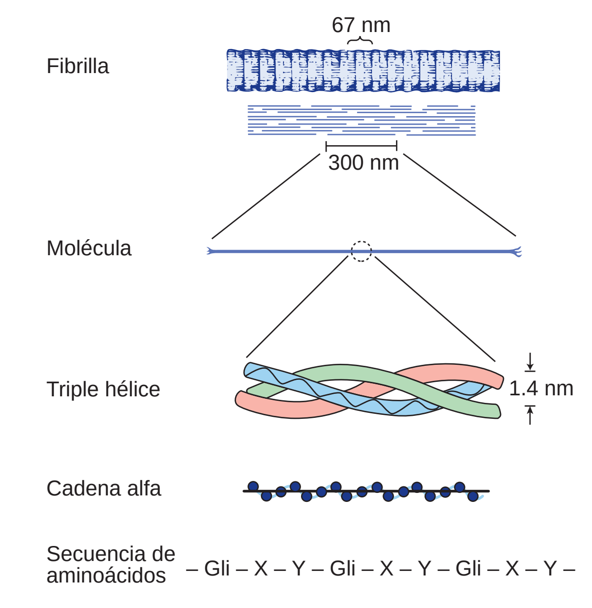


FIGURA 48-1 Características moleculares de estructuras de colágeno desde la secuencia primaria hasta la fibrilla. Cada cadena polipeptídica individual forma una hélice siniestra de tres residuos (Gli-X-Y) por cada vuelta, y todas estas cadenas luego forman una superhélice diestra. (Modificada y reproducida, con autorización, de Eyre DR: Collagen: Molecular diversity in the body's protein scaffold. Science 1980;207:1315. Copyright © 1980 por la American Association for the Advancement of Science.)

Los tipos de colágeno que forman fibras parecidas a varillas largas en los tejidos se montan por medio de asociación lateral de estas tres unidades de triple hélice hacia una **alineación "escalonada por cuartos"** de modo que cada una está desplazada longitudinalmente desde su vecina por un poco menos que un cuarto de su longitud (fig. 48-1, parte superior). Esta disposición es la causa del aspecto en bandas de estas fibras en tejidos conjuntivos. Las fibras de colágeno se estabilizan más mediante la formación de **enlaces cruzados covalentes**, tanto dentro como entre las unidades de triple hélice. Estos enlaces cruzados se forman por medio de la acción de la **lisil oxidasa**, una enzima dependiente de cobre que desamina de manera oxidativa los grupos ϵ-amino de ciertos residuos lisina e hidroxilisina, lo que da aldehídos reactivos. Esos aldehídos pueden formar productos de condensación aldol con otros aldehídos derivados de lisina o hidroxilisina, o formar bases Schiff con los grupos ε-amino de lisinas o hidroxilisinas no oxidadas. Estas reacciones, después de reordenamientos químicos adicionales, dan por resultado los enlaces cruzados covalentes estables que tienen importancia para la tensión de corte de las fibras. La histidina también puede quedar involucrada en ciertos enlaces cruzados.

Varios tipos de colágeno no forman fibrillas en los tejidos (cuadro 48-2). Se caracterizan por interrupciones de la triple hélice con tramos de proteína que carecen de secuencias de repetición Gli-X-Y. Estas secuencias no Gli-X-Y originan áreas de estructura globular entremezcladas en la estructura de triple hélice.

El **colágeno tipo IV**, el ejemplo mejor caracterizado de un colágeno con triples hélices discontinuas, es un componente de importancia de las **membranas basales**, donde forma una red parecida a malla.

El colágeno pasa por extensas modificaciones postraduccionales

El colágeno recién sintetizado pasa por extensa **modificación postraduccional** antes de hacerse parte de una fibra de colágeno extracelular madura (cuadro 48-3). Al igual que casi todas las proteínas secretadas, el colágeno se sintetiza en ribosomas y en una forma precursora, el **preprocolágeno**, que contiene una secuencia líder o señal que dirige la cadena polipeptídica hacia la luz del retículo endoplásmico. Conforme entra al retículo endoplásmico, esta secuencia líder se elimina de modo enzimático. La **hidroxilación** de residuos prolina y lisina, y la **glucosilación** de hidroxilisinas en la molécula de **procolágeno**, también tienen lugar en este sitio. La molécula de procolágeno contiene extensiones polipeptídicas **(péptidos de extensión)** de 20 a 35 kDa en sus extremos tanto amino como carboxilo terminal, ninguno de los cuales está presente en el colágeno maduro. Ambos péptidos de extensión contienen residuos cisteína. Mientras que el propéptido amino terminal sólo forma enlaces disulfuro intracadena, los propéptidos carboxilo terminal forman enlaces disulfuro tanto intracadena como intercadena. La formación de estos enlaces disulfuro ayuda en el **registro** de las tres moléculas de colágeno para formar la triple hélice, que se constituye desde el extremo carboxilo terminal. Luego de formación de la triple hélice, no puede tener lugar hidroxilación adicional de prolina o lisina, ni glucosilación de hidroxilisinas. El **automontaje** es un principio fundamental en la biosíntesis de colágeno.

Después de **secreción** desde la célula mediante el aparato de Golgi, enzimas extracelulares denominadas **procolágeno aminoproteinasa** y **procolágeno carboxiproteinasa** eliminan los péptidos de extensión en los extremos amino y carboxilo terminal, respectivamente. Estos polipéptidos pueden dividirse dentro de criptas o pliegues en la membrana celular. Una vez que los propéptidos se eliminan, las moléculas de colágeno de triple hélice, que contienen unos 1 000 aminoácidos por cada cadena, se **montan de manera espontánea** hacia fibras de colágeno, las cuales se estabilizan más por medio de la formación de **enlaces cruzados intercadena e intracadena** mediante la acción de la lisil oxidasa, como se describió.

Las mismas células que secretan colágeno también secretan **fibronectina**, una glucoproteína grande presente sobre superficies celulares, en la matriz extracelular y en la sangre (véase más adelante). La fibronectina se une a fibras de precolágeno que se están agregando, y altera la cinética de la formación de fibras en la matriz pericelular. Relacionados con la fibronectina y el procolágeno en esta matriz están los **proteoglucanos** heparán sulfato y condroitín sulfato (véase más adelante). De hecho, el **colágeno tipo IX**, un tipo de colágeno menor del cartílago, contiene cadenas de proteoglucano fijas. Esas interacciones pueden servir para regular la formación de fibras de colágeno y para determinar su orientación en los tejidos.

Una vez formado, el colágeno es relativamente **estable desde el punto de vista metabólico**. Empero, su desintegración está aumentada durante la inanición y diversos estados inflamatorios. En varias enfermedades hay producción excesiva de colágeno, por ejemplo, la cirrosis hepática.

CUADRO 48-3 Orden y localización del procesamiento del precursor de colágeno fibrilar

Intracelular
1. División de péptido señal
2. Hidroxilación de residuos prolil y algunos residuos lisil; glucosilación de algunos residuos hidroxilisil
3. Formación de enlaces S-S intracadena e intercadena en péptidos de extensión
4. Formación de triple hélice
Extracelular
1. División de propéptidos amino y carboxilo terminal
2. Montaje de fibras de colágeno en alineación escalonada por cuartos
3. Desaminación oxidativa de grupos ε-amino de residuos lisil e hidroxilisil a aldehídos
4. Formación de enlaces cruzados intracadena e intercadena por medio de bases Schiff y productos de condensación de aldol

Varias enfermedades genéticas se producen por anormalidades de las síntesis de colágeno

Alrededor de 30 genes codifican para los colágenos, y su vía de biosíntesis es compleja; comprende por lo menos ocho pasos postraduccionales catalizados por enzima. Así, no sorprende que varias enfermedades (cuadro 48-4) se deban a **mutaciones en genes que codifican para colágeno** o en **genes que codifican para algunas de las enzimas** involucradas en estas modificaciones postraduccionales. Las enfermedades que afectan el hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y cartílago (p. ej., las condrodisplasias) se comentarán más adelante en este capítulo.

El **síndrome de Ehlers-Danlos** incluye un grupo de trastornos hereditarios cuyas principales características clínicas son hiperextensibilidad de la piel, fragilidad hística anormal y movilidad articular incrementada. El cuadro clínico es variable y refleja la extensa heterogeneidad genética subyacente. Se han reconocido al menos 10 tipos, casi todos los cuales reflejan diversas lesiones en la síntesis de colágeno. El **tipo IV** es el más serio debido a su tendencia a rotura espontánea de arterias o del intestino, lo que refleja anormalidades del colágeno tipo III. Los pacientes con el **tipo VI**, que se debe a una deficiencia de lisil hidroxilasa, muestran notoria hipermovilidad de las articulaciones, y tendencia a rotura ocular. Una deficiencia de la procolágeno *N*-proteinasa, que causa formación de fibrillas de colágeno delgadas e irregulares, anormales, suscita el tipo **VIIC**, que se manifiesta por notoria hipermovilidad articular y piel suave.

CUADRO 48-4 Enfermedades causadas por mutaciones en genes que codifican para colágeno o por deficiencias en las actividades de enzimas postraduccionales involucradas en la biosíntesis de colágeno

Gen o enzima	Enfermedad[1]
COL1A1, COL1A2	Osteogénesis imperfecta, tipo 1[2] (OMIM 166200) Osteoporosis[3] (OMIM 166710) Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VII autosómico dominante (OMIM 130060)
COL2A1	Condrodisplasias graves Osteoartritis[3] (OMIM 165720)
COL3A1	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo IV (OMIM 130050)
COL4A3–COL4A6	Síndrome de Alport (incluso formas tanto autosómica como ligada a X) (OMIM 104200)
COL7A1	Epidermólisis ampollar, distrófica (OMIM 131750)
COL10A1	Condrodisplasia metafisaria de Schmid (OMIM 156500)
Lisil hidroxilasa	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VI (OMIM 225400)
Procolágeno *N*-proteinasa	Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VII autosómico recesivo (OMIM 225410)
Lisil hidroxilasa	Enfermedad de Menkes[4] (OMIM 309400)

Fuente: Adaptado de Prockop DJ, Kivirrikko KI: Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. Annu Rev Biochem 1995;64:403. Copyright ©1995 por Annual Reviews. Reimpreso con autorización.
[1] Se ha mostrado enlace genético con genes que codifican para colágeno para algunas otras enfermedades no listadas aquí.
[2] Se reconocen al menos cuatro tipos de osteogénesis imperfecta; casi todas las mutaciones en todos los tipos están en los genes *COL1A1* y *COL1A2*.
[3] Hoy se aplica a sólo un número relativamente pequeño de esos pacientes.
[4] Secundaria a una deficiencia de cobre (cap. 50).

El **síndrome de Alport** es la designación que se aplica a diversos trastornos genéticos (tanto ligados a X como autosómicos) que afectan la estructura de fibras de colágeno **tipo IV**, el principal colágeno que se encuentra en las membranas basales de los glomérulos renales (véase la exposición sobre laminina, más adelante). Se han demostrado mutaciones en varios genes que codifican para fibras de colágeno tipo IV. El signo de presentación es hematuria, y finalmente puede sobrevenir enfermedad renal en etapa terminal. La microscopia electrónica revela anormalidades características de la estructura de la membrana basal y la lámina densa.

En la **epidermólisis ampollar**, la piel se rompe y muestra formación de vesículas como resultado de traumatismo menor. La forma distrófica se debe a mutaciones en *COL7A1*, que afectan la estructura del colágeno **tipo VII**. Este colágeno forma fibras delicadas que fijan la lámina basal a fibrillas de colágeno en la dermis. Se ha mostrado que estas fibrillas de fijación están notoriamente disminuidas en esta forma de la enfermedad, lo que quizá produce la formación de vesículas. La epidermólisis ampollar simple, otra variante, se debe a mutaciones de la queratina 5 (cap. 49).

El **escorbuto** afecta la estructura del colágeno; sin embargo, se debe a una **deficiencia de ácido ascórbico** (cap. 44) y no es una enfermedad genética. Sus principales signos son encías sangrantes, hemorragias subcutáneas y cicatrización inadecuada de heridas. Estos signos reflejan la síntesis alterada de colágeno debida a **deficiencias de prolil y lisil hidroxilasas**, ambas de las cuales requieren ácido ascórbico como un cofactor.

En la **enfermedad de Menkes** (cap. 50) la deficiencia de cobre ocasiona entrecruzamiento defectuoso de colágeno y elastina por la enzima dependiente de cobre lisil oxidasa.

LA ELASTINA CONFIERE EXTENSIBILIDAD Y RETROCESO ELÁSTICO A LOS PULMONES, LOS VASOS SANGUÍNEOS Y LOS LIGAMENTOS

La **elastina** es una proteína del tejido conjuntivo de la cual dependen las propiedades de extensibilidad y retroceso elástico en los tejidos. Si bien no está tan difundida como el colágeno, la elastina se encuentra en grandes cantidades, especialmente en tejidos que necesitan estas propiedades físicas, por ejemplo, los pulmones, los vasos sanguíneos arteriales de gran calibre, y algunos ligamentos elásticos. También se encuentran cantidades menores de elastina en la piel, el cartílago de la oreja y varios otros tejidos. En contraste con el colágeno, parece haber sólo un tipo genético de elastina, aunque surgen variantes por el empalme alternativo (cap. 36) del hnRNA que codifica para elastina. La elastina se sintetiza como un monómero soluble de ~70 kDa llamado **tropoelastina**. Algunas de las prolinas de la tropoelastina se hidroxilan hacia **hidroxiprolina** por medio de la prolil hidroxilasa, aun cuando no están presentes hidroxilisina ni hidroxilisina glucosilada. A diferencia del colágeno, la tropoelastina no se sintetiza en una proforma con péptidos de extensión. Más aún, la elastina no contiene secuencias Gli-X-Y repetidas, estructura de triple hélice, ni porciones carbohidrato.

Luego de secreción desde la célula, ciertos residuos lisil de la tropoelastina se desaminan de modo oxidativo hacia aldehídos mediante la **lisil oxidasa**, la misma enzima involucrada en este proceso en el colágeno. Aun así, los principales enlaces cruzados que se forman en la elastina son las **desmosinas**, que se producen por la condensación de tres de estos aldehídos derivados de lisina con una lisina no modificada para formar un enlace cruzado tetrafuncional singular para la elastina. Una vez que se entrecruza en su forma extracelular madura, la elastina es muy insoluble y **en extremo estable**, y tiene un índice de recambio muy bajo. La elastina muestra diversas conformaciones de espiral al azar que permiten que la proteína se estire y después retroceda durante el desempeño de sus funciones fisiológicas.

El cuadro 48-5 resume las principales diferencias entre colágeno y elastina.

Se han hallado deleciones en el gen que codifica para elastina (ubicado en 7q11.23) en alrededor de 90% de los enfermos con **síndrome de Williams-Beuren** (OMIM 194050), trastorno del desarrollo que afecta el tejido conjuntivo y el sistema nervioso central. Las mutaciones, al afectar la síntesis de elastina, probablemente tienen una participación causal en la **estenosis aórtica supravalvular** que a menudo se encuentra en esta enfermedad. La fragmentación o, de manera alternativa, un decremento de la elastina, se encuentra en enfermedades como enfisema pulmonar, cutis laxa y envejecimiento de la piel.

CUADRO 48-5 Principales diferencias entre colágeno y elastina

Colágeno	Elastina
1. Muchos tipos genéticos diferentes	Un tipo genético
2. Triple hélice	No hay triple hélice; conformaciones en espiral al azar que permiten el estiramiento
3. Estructura repetitiva $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$	No tiene estructura repetitiva $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$
4. Presencia de hidroxilisina	No tiene hidroxilisina
5. Contiene carbohidrato	No tiene carbohidrato
6. Enlaces cruzados aldol intramoleculares	Enlaces cruzados a desmosina intramoleculares
7. Presencia de péptidos de extensión durante la biosíntesis	No hay péptidos de extensión durante la biosíntesis

EL SÍNDROME DE MARFAN SE DEBE A MUTACIONES EN EL GEN QUE CODIFICA PARA LA FIBRILINA-1, UNA PROTEÍNA PRESENTE EN MICROFIBRILLAS

El **síndrome de Marfan** es una enfermedad hereditaria relativamente prevaleciente que afecta el tejido conjuntivo; se hereda como un rasgo autosómico dominante. Afecta a los **ojos** (p. ej., al causar luxación del cristalino, conocida como *ectopia lentis*), el **sistema esquelético** (la mayoría de los pacientes es alta y muestra dedos largos [aracnodactilia] e hiperextensibilidad de las articulaciones), y el **sistema cardiovascular** (p. ej., da por resultado debilidad de la media aórtica, lo que conduce a dilatación de la parte ascendente de la aorta). Abraham Lincoln quizá tuvo esta enfermedad. La mayor parte de los casos se origina por mutaciones en el gen (en el cromosoma 15) que codifica para la **fibrilina-1**; se han detectado mutaciones sin sentido en varios sujetos con síndrome de Marfan. Esto causa fibrilina anormal o depósito de cantidades menores en la ECM, o ambos trastornos. Hay evidencia de que la citocina **TGF-β** (factor de crecimiento transformante) normalmente se une a la a fibrilina-1, y si esta unión está disminuida (debido a cantidades más bajas de la fibrilina-1), esto puede llevar a un exceso de la citocina. El exceso de TGF-β puede contribuir a la patología (p. ej., en la aorta y la válvula aórtica) que se encuentra en el síndrome. Este dato puede llevar a la creación de terapias para la enfermedad empleando fármacos antagonistas del TGF-β (p. ej., losartán).

La **fibrilina-1** es una glucoproteína grande (aproximadamente 350 kDa) que es un componente estructural de microfibrillas, fibras de 10 a 12 nm que se encuentran en muchos tejidos. Los fibroblastos la secretan (luego de una división proteolítica) hacia la matriz extracelular, y queda incorporada hacia las **microfibrillas** insolubles, que parecen proporcionar un **andamio** para el depósito de elastina. La fibrilina-1 se encuentra en las fibras zonulares del **cristalino**, en el **periostio**, y se asocia con fibras de elastina en la **aorta** (y en otros sitios, lo cual tiene particular importancia para el síndrome de Marfan); estas ubicaciones explican, respectivamente, la subluxación del cristalino, la aracnodactilia y los problemas cardiovasculares que se encuentran en el síndrome. Otras proteínas (p. ej., emelina y dos proteínas relacionadas con microfibrillas) también se encuentran en microfibrillas. Parece probable que las anormalidades de ellas puedan suscitar otros trastornos del tejido conjuntivo. Un gen que codifica para otra fibrilina —la **fibrilina-2**— existe en el cromosoma 5; las mutaciones en este gen están enlazadas a la causa de la **aracnodactilia contractural congénita** (OMIM 121050), no así al síndrome de Marfan. La fibrilina-2 puede ser importante en el depósito de microfibrillas en etapas tempranas del desarrollo. En la figura 48-2 se resume la secuencia de eventos probable que da pie a síndrome de Marfan.

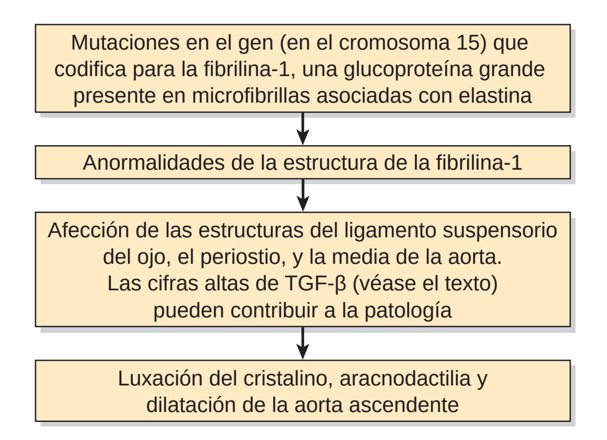


FIGURA 48-2 Secuencia probable de eventos en el origen de los principales signos del síndrome de Marfan (OMIM 154700).

LA FIBRONECTINA ES UNA GLUCOPROTEÍNA IMPORTANTE INVOLUCRADA EN LA ADHERENCIA Y MIGRACIÓN CELULARES

La **fibronectina** es una glucoproteína importante de la matriz extracelular, que también se encuentra en una forma soluble en el plasma. Consta de dos subunidades idénticas, cada una de alrededor de 230 kDa, unida por dos puentes disulfuro cerca de sus carboxilo terminales. El gen que codifica para fibronectina es muy grande; contiene unos 50 exones; el RNA producido por su transcripción está sujeto a considerable empalme alternativo, y se han detectado hasta 20 mRNA diferentes en diversos tejidos. La fibronectina contiene tres tipos de motivos de repetición (I, II y III), que están organizados hacia **dominios** funcionales (por lo menos siete); las funciones de estos dominios comprenden unión a **heparina** (véase más adelante) y fibrina, colágeno, DNA y superficies celulares (fig. 48-3). Se ha determinado la secuencia de aminoácidos del receptor de fibronectina de fibroblastos, y la proteína es un miembro de la clase de proteínas integrina transmembrana (cap. 51). Las **integrinas** son heterodímeros que contienen diversos tipos de cadenas polipeptídicas α y β. La fibronectina contiene una secuencia Arg-Gli-Asp (RGD) que se une al receptor. La **secuencia RGD** es compartida por varias otras proteínas presentes en la ECM, que se unen a las integrinas presentes en superficies celulares. Los péptidos sintéticos que contienen la secuencia RGD inhiben la unión de fibronectina a superficies celulares. La figura 48-4 ilustra la interacción del colágeno, la fibronectina y la laminina, todas ellas proteínas importantes en la ECM, con una célula típica (p. ej., fibroblasto) presente en la matriz.

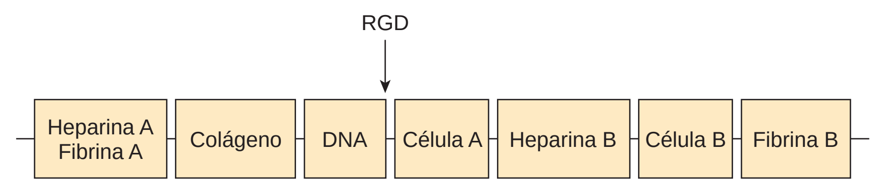


FIGURA 48-3 Representación esquemática de la fibronectina. Hay representados siete dominios funcionales de la fibronectina; se muestran dos tipos diferentes de dominio para heparina, unión a célula, y fibrina. Los dominios están compuestos de diversas combinaciones de tres motivos estructurales (I, II y III), que no se muestran en esta figura. Tampoco se muestra el hecho de que la fibronectina es un dímero unido por puentes disulfuro cerca de los carboxilo terminales de los monómeros. La flecha indica la ubicación aproximada de la secuencia RGD de la fibronectina, que interactúa con diversos receptores de integrina y fibronectina sobre superficies celulares. (Redibujada según Yamada KM: Adhesive recognition sequences. J Biol Chem 1991;266:12809.)

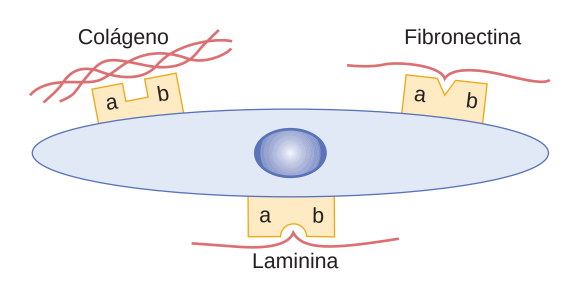


FIGURA 48-4 Representación esquemática de una célula que interactúa por medio de diferentes receptores de integrina con el colágeno, la fibronectina y la laminina presentes en la ECM. (No se indican subunidades específicas.) (Redibujada según Yamada KM: Adhesive recognition sequences. J Biol Chem 1991;266:12809.)

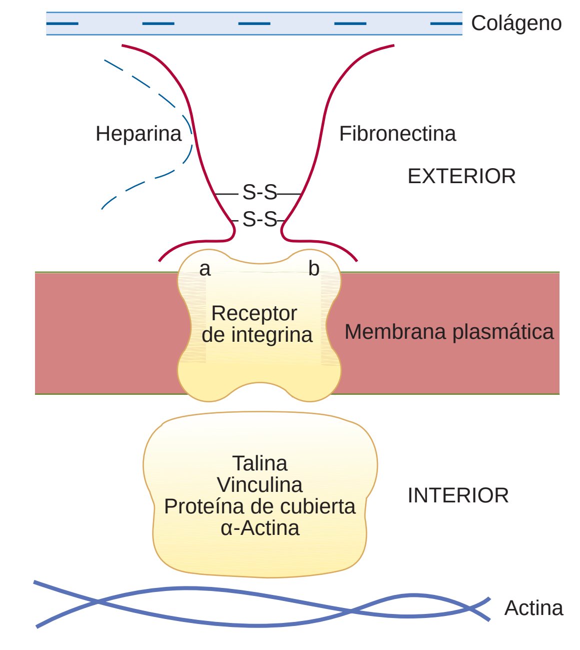


FIGURA 48-5 Representación esquemática de la fibronectina interactuando con un receptor de fibronectina integrina situado en el exterior de la membrana plasmática de una célula de la ECM, y de diversas proteínas de fijación que interactúan de manera indirecta o directa con un microfilamento de actina en el citosol. En aras de la sencillez, las proteínas de fijación se representan como un complejo.

El receptor de fibronectina interactúa de modo indirecto con microfilamentos de **actina** (cap. 49) presentes en el citosol (fig. 48-5). Participan varias proteínas, denominadas en conjunto **proteínas de fijación**; éstas incluyen talina, vinculina, una proteína de cubierta de filamentos de actina, y α-actinina. La talina interactúa con el receptor y la vinculina, mientras que estas dos últimas interactúan con la actina. La interacción de la fibronectina con su receptor proporciona una ruta por medio de la cual el **exterior de la célula puede comunicarse con el interior** y, de esta manera, afectar la conducta de la célula. Mediante la interacción con su receptor celular, la fibronectina desempeña una función importante en la **adherencia** de células a la ECM. También participa en la **migración celular** al proporcionar un sitio de unión para células y, de este modo, ayudarlas a dirigir su paso por la ECM. La cantidad de fibronectina alrededor de muchas **células transformadas** está reducida de manera aguda, lo que explica en parte su interacción defectuosa con la ECM.

LA LAMININA ES UN COMPONENTE PROTEÍNICO IMPORTANTE DE LAS LÁMINAS BASALES DE LOS GLOMÉRULOS RENALES Y DE OTRAS LÁMINAS BASALES

Las **láminas basales** son áreas especializadas de la ECM que rodean células epiteliales y algunas otras células (p. ej., musculares). Aquí sólo se comentan las láminas que se encuentran en el **glomérulo renal**. En esa estructura, la lámina basal es aportada por dos hojas de células separadas (una endotelial y una epitelial), cada una ubicada sobre lados opuestos de la lámina; estas tres capas constituyen la **membrana glomerular**. Los componentes primarios de la lámina basal son tres proteínas —laminina, entactina y colágeno tipo IV— y la GAG **heparina** o **heparán sulfato**. Estos componentes son sintetizados por las células subyacentes.

La **laminina** (de alrededor de 850 kDa, 70 nm de largo) consta de tres cadenas polipeptídicas alargadas distintas (A, B_1 y B_2) enlazadas entre sí para formar una estructura cruciforme alargada (fig. 49-11). Tiene sitios de unión potenciales para el colágeno tipo IV, heparina, e integrinas sobre superficies celulares. El colágeno interactúa con la laminina (en lugar de directamente con la superficie



FIGURA 48-6 Micrografía electrónica de campo oscuro de un agregado de proteoglucano en el cual las subunidades del proteoglucano y el esqueleto filamentoso están en especial bien extendidos. (Reproducida, con autorización, de Rosenberg L, Hellman W, Kleinschmidt AK: Electron microscopic studies of proteoglycan aggregates from bovine articular cartilage. J Biol Chem 1975;250:1877.)

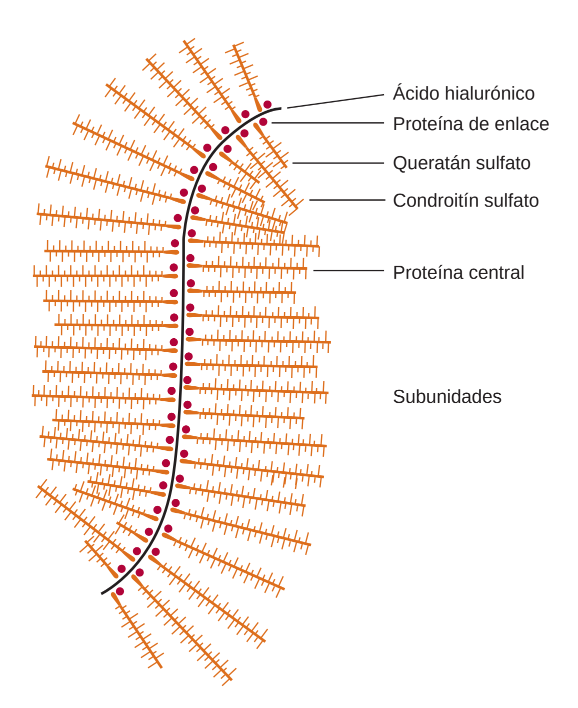


FIGURA 48-7 Representación esquemática del proteoglucano agrecano. (Reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

celular), que a su vez interactúa con integrinas u otras proteínas receptoras de laminina, lo que fija la lámina a la célula. La **entactina**, también conocida como "nidógeno", es una glucoproteína que contiene una secuencia RGD; se une a la laminina, y es un importante factor de fijación celular. La lámina basal relativamente gruesa del glomérulo renal tiene una función importante en la **filtración glomerular**, al regular el paso de moléculas grandes (casi todas las proteínas plasmáticas) a través del glomérulo hacia el túbulo renal. La membrana glomerular permite que moléculas pequeñas, como la **inulina** (5.2 kDa), pasen con tanta facilidad como el agua. Por otro lado, únicamente una pequeña cantidad de la proteína **albúmina** (69 kDa), la principal proteína plasmática, pasa por el glomérulo normal. Esto se explica por dos grupos de hechos: 1) los **poros** en la membrana glomerular son suficientemente grandes como para permitir el paso de moléculas de hasta 8 nm y 2) la albúmina es de menor tamaño que este tamaño de poro, pero se evita que pase con facilidad por medio de las **cargas negativas** del heparán sulfato y de ciertas glucoproteínas que contienen ácido siálico presentes en la lámina. Estas cargas negativas repelen la albúmina y casi todas las proteínas plasmáticas, que tienen carga negativa al pH de la sangre. La estructura normal del glomérulo puede quedar gravemente dañada en ciertos tipos de **glomerulonefritis** (p. ej., causada por anticuerpos dirigidos contra diversos componentes de la membrana glomerular). Esto altera los poros y las cantidades y disposiciones de las macromoléculas con carga negativa mencionadas, y cantidades relativamente masivas de albúmina (y de algunas otras proteínas plasmáticas) pueden pasar hacia la orina, lo que produce **albuminuria** grave.

PROTEOGLUCANOS Y GLUCOSAMINOGLUCANOS

Los glucosaminoglucanos que se encuentran en los proteoglucanos están constituidos por disacáridos repetitivos

Los **proteoglucanos** son proteínas que contienen glucosaminoglucanos enlazados de modo covalente. Se han caracterizado al menos 30 y se les han asignado nombres como sindecano, betaglicano, serglicina, perlecano, agrecano, versicano, decorina, biglicano y fibromodulina. Varían en su distribución en los tejidos, la naturaleza de la proteína central, los glucosaminoglucanos fijos y la función. Las proteínas unidas de manera covalente a los glucosaminoglucanos se llaman "**proteínas centrales"**; han resultado difíciles de aislar y caracterizar, pero el uso de tecnología de DNA recombinante está empezando a proporcionar información importante acerca de sus estructuras. La cantidad de **carbohidrato** en un proteoglucano por lo general es mucho mayor que la que se encuentra en una glucoproteína, y puede comprender hasta 95% de su peso. En las figuras 48-6 y 48-7 se muestra la estructura general de un proteoglucano particular, el **agrecano**, el principal tipo que se encuentra en el cartílago. Es

Ácido hialurónico: β1,4 → GlcUA β1,3 → GlcNAc β1,4 → GlcUA β1,3 → GlcNAc β1,4 →

Condroitín sulfatos: β1,4 → GlcUA β1,3 → GalNAc β1,4 → GlcUA β1,3 → Gal β1,3 → Gal β1,4 → Xil β → Ser
4- o 6-sulfato

Queratán sulfatos I y II: β1,4 → GlcNAc β1,3 → Gal β1,4 → GlcNAc β1,3 → Gal
6-Sulfato 6-Sulfato
(GlcNAc, Man) GlcNAc β → Asn (queratán sulfato I)
1,6 GalNAc α → Tre (Ser) (queratán sulfato II)
Gal-NeuAc

Heparina y heparán sulfato: α1,4 → IdUA α1,4 → GlcN α1,4 → GlcUA β1,4 → GlcNAc α1,4 → GlcUA β1,3 → Gal β1,3 → Gal β1,4 → Xil β → Ser
6-Sulfato
2-Sulfato SO_3^- o Ac

Dermatán sulfato: β1,4 → IdUA α1,3 → GalNAc β1,4 → GlcUA β1,3 → GalNAc β1,4 → GlcUA β1,3 → Gal β1,3 → Gal β1,4 → Xil β → Ser
2-Sulfato 4-Sulfato

FIGURA 48-8 Resumen de las estructuras de los glucosaminoglucanos y sus fijaciones a proteínas centrales. (GlcUA, ácido D-glucurónico; IdUA, ácido L-idurónico; GlcN, D-glucosamina; GalN, D-galactosamina; Ac, acetilo; Gal, D-galactosa; Xil, D-xilosa; Ser, L-serina; Tre, L-treonina; Asn, L-asparagina; Man, D-manosa; NeuAc, ácido *N*-acetilneuramínico.) Las estructuras resumen sólo representaciones cualitativas y no reflejan, por ejemplo, la composición de ácido urónico de glucosaminoglucanos híbridos como heparina y dermatán sulfato, que contienen tanto ácido L-idurónico como D-glucurónico. Tampoco debe suponerse que los sustituyentes indicados siempre están presentes, p. ej., en tanto que casi todos los residuos ácido idurónico en la heparina portan un grupo 2'-sulfato, una proporción mucho menor de estos residuos está sulfatada en el dermatán sulfato. Se muestra la presencia de trisacáridos de enlace (Gal-Gal-Xil) en los condroitín sulfatos, heparina, y heparán y dermatán sulfatos. (Modificada y reproducida, con autorización, de Lennarz WJ: *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* Plenum Press, 1980. Reproducida con la amable autorización de Springer Science and Business Media.)

muy grande (de aproximadamente 2×10^3 kDa); su estructura general semeja la de un limpiabotellas. Contiene una cadena larga de ácido hialurónico (un tipo de GAG) al cual proteínas de enlace se fijan de **modo no covalente**. A su vez, estas últimas interactúan de manera no covalente con moléculas de proteína centrales desde las cuales se proyectan las cadenas de otros GAG (queratán sulfato y condroitín sulfato en este caso). Más adelante, cuando se comenta el cartílago, se proporcionan más detalles sobre esta macromolécula.

Hay por lo menos siete **glucosaminoglucanos (GAG):** ácido hialurónico, condroitín sulfato, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato. Un GAG es un polisacárido no ramificado constituido de disacáridos repetitivos, un componente del cual siempre es un **azúcar amino** (de ahí el nombre GAG), sea D-glucosamina o D-galactosamina. El otro componente del disacárido repetitivo (excepto en el caso del queratán sulfato) es un **ácido urónico**, sea ácido L-glucurónico (GlcUA) o su 5′-epímero, ácido L-idurónico (IdUA). Con la excepción del ácido hialurónico, todos los GAG contienen **grupos sulfato**, sea como O-ésteres o como N-sulfato (en la heparina y el heparán sulfato). El ácido hialurónico proporciona otra excepción porque no hay evidencia clara de que esté fijo de modo covalente a proteína, como lo especifica la definición de un proteoglucano antes proporcionada. Ha resultado difícil trabajar tanto con GAG como con proteoglucanos, debido en parte a su complejidad. Como quiera que sea, son componentes importantes de la ECM; tienen diversas funciones biológicas importantes, y están involucrados en diversos procesos morbosos, de manera que el interés por ellos está aumentando con rapidez.

La biosíntesis de glucosaminoglucanos incluye fijación a proteínas centrales, alargamiento de cadena y terminación de cadena

Fijación a proteínas centrales

El enlace entre GAG y sus proteínas centrales regularmente es de uno de tres tipos:

1. Un **enlace O-glucosídico** entre **xilosa** (Xil) y **Ser**, un enlace que es singular para los proteoglucanos. Este enlace se forma mediante transferencia de un residuo Xil hacia Ser desde la UDP-xilosa. A continuación se añaden dos residuos de Gal al residuo Xil, lo que forma un **enlace trisacárido**, Gal-Gal-XylSer. El crecimiento de cadena adicional del GAG ocurre en la Gal terminal.
2. Se forma un **enlace O-glucosídico** entre **GalNAc** (*N*-acetilgalactosamina) y **Ser (Tre)** (fig. 47-1A), presente en el queratán sulfato II. Este enlace se forma por medio de donación a Ser (o Tre) de un residuo GalNAc, que usa UDP-GalNAc como su donador.
3. Un **enlace N-glucosilamina** entre **GlcNAc** (*N*-acetilglucosamina) y el nitrógeno amino de **Asn**, como se encuentra en glucoproteínas N-enlazadas (fig. 47-1B). Se cree que su síntesis comprende dolicol-P-P-oligosacárido.

Las proteínas centrales se sintetizan en el **retículo endoplásmico**, y ahí también se forman al menos algunos de los enlaces anteriores.

CUADRO 48-6 Propiedades importantes de los glucosaminoglucanos

GAG	Azúcares	Sulfato[1]	Enlace de proteína	Ubicación
HA	GlcNAc, GlcUA	Nil	No hay evidencia firme	Líquido sinovial, humor vítreo, tejido conjuntivo laxo
CS	GalNAc, GlcUA	GalNAc	Xil-Ser; asociado con HA mediante proteínas de enlace	Cartílago, hueso, córnea
KS I	GlcNAc, Gal	GlcNAc	GlcNAc-Asn	Córnea
KS II	GlcNAc, Gal	Igual que KS I	GalNAc-Tre	Tejido conjuntivo laxo
Heparina	GlcN, IdUA	GlcN	Ser	Células cebadas
		GlcN		
		IdUA		
Heparán sulfato	GlcN, GlcUA	GlcN	Xil-Ser	Fibroblastos cutáneos, pared de la aorta
Dermatán sulfato	GalNAc, IdUA, (GlcUA)	GalNAc	Xil-Ser	Distribución amplia
		IdUa		

[1]El sulfato está fijo a varias posiciones de los azúcares indicados (fig. 48-8).
Note que todos los GAG (salvo el queratán sulfato) tienen una adición urónica (ácido glucurónico o idurónico).

Casi todos estos últimos pasos en la biosíntesis de cadenas GAG y sus modificaciones subsiguientes suceden en el **aparato de Golgi**.

Alargamiento de cadena

Azúcares nucleótido apropiados y **glucosiltransferasas** muy específicas ubicadas en el aparato de Golgi se emplean para sintetizar las cadenas de oligosacárido de GAG. Aquí parece aplicarse la relación **"una enzima**, **un enlace"**, como en el caso de ciertos tipos de enlaces que se encuentran en glucoproteínas. Los sistemas enzimáticos involucrados en el alargamiento de cadena tienen la capacidad de reproducción de GAG complejos con alta fidelidad.

Terminación de cadena

Parece depender de: 1) **sulfación**, de manera especial en ciertas posiciones de los azúcares, y 2) la **progresión** de la cadena de GAG en crecimiento en dirección contraria al sitio de la membrana donde ocurre catálisis.

Modificaciones adicionales

Tras la formación de la cadena de GAG, suceden **muchas modificaciones químicas**, como la introducción de grupos sulfato, hacia GalNAc y otras porciones, y la epimerización de residuos GlcUA hacia IdUA. Las enzimas que catalizan la sulfación se designan **sulfotransferasas** y usan **3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato** (PAPS; sulfato activo) (fig. 32-11) como el donador de sulfato. Estas enzimas localizadas en el aparato de Golgi son muy específicas, y distintas enzimas catalizan la sulfación en diferentes posiciones (p. ej., carbonos 2, 3, 4 y 6) en los azúcares aceptores. Una **epimerasa** cataliza conversiones de residuos glucuronil en iduronil.

Los diversos glucosaminoglucanos muestran diferencias de estructura y tienen distribuciones características

Los siete GAG antes nombrados **difieren** uno de otro en varias de las propiedades que siguen: composición de azúcar amino, composición de ácido urónico, enlaces entre estos componentes, longitud de cadena de los disacáridos, presencia o ausencia de grupos sulfato y sus posiciones de fijación a los azúcares constituyentes, naturaleza de las proteínas centrales a las cuales están fijos, naturaleza del enlace a proteína central, su distribución en tejidos y subcelular, y sus funciones biológicas.

Ahora se comentan de manera breve las estructuras (fig. 48-8) y distribuciones de cada uno de los GAG. En el cuadro 48-6 se resumen las principales características de los siete GAG.

Ácido hialurónico

Consta de una cadena no ramificada de unidades de disacárido repetitivas que contienen GlcUA y GlcNAc. El ácido hialurónico está presente en bacterias, y se encuentra ampliamente distribuido entre diversos animales y tejidos, incluso el líquido sinovial, el cuerpo vítreo, cartílago y tejidos conjuntivos laxos.

Condroitín sulfatos (condroitín 4-sulfato y condroitín 6-sulfato)

Los proteoglucanos enlazados a **condroitín sulfato** por el enlace Xil-Ser O-glucosídico son componentes notorios del **cartílago** (véase más adelante). El disacárido repetitivo es similar al que se encuentra en el ácido hialurónico; y contiene GlcUA pero con **GalNAc** remplazando a GlcNAc. El GalNAc se sustituye con **sulfato** en su posición 4′ o 6′; aproximadamente un sulfato está presente por cada unidad de disacárido.

Queratán sulfatos I y II

Los queratán sulfatos constan de unidades de disacárido **Gal-GlcNAc** repetitivas que contienen **sulfato** fijo a la posición 6′ de GlcNAc o en ocasiones de Gal. El tipo I es abundante en la **córnea**, y el tipo II se encuentra junto con el condroitín sulfato fijo al ácido hialurónico en el **tejido conjuntivo laxo**. Los tipos I y II tienen diferentes fijaciones a proteína (fig. 48-8).

GlcN IdUA GlcN IdUA GlcN GlcUA GlcNAc

FIGURA 48-9 Estructura de la heparina. La sección del polímero ilustra características estructurales típicas de la heparina; de cualquier modo, la secuencia de las unidades de disacárido repetitivas sustituidas de diversas maneras se ha seleccionado de modo arbitrario. Además, también puede haber residuos glucosamina no O-sulfatados o 3-O-sulfatados. (Modificada, redibujada y reproducida, con autorización, de Lindahl U *et al*.: Structure and biosynthesis of heparin-like polysaccharides. Fed Proc 1977;36:19.)

Heparina

El disacárido repetitivo contiene **glucosamina** (GlcN) y uno u otro de los dos ácidos urónicos (fig. 48-9). Casi todos los aminoácidos de los residuos GlcN están **N-sulfatados**, pero algunos están acetilados. El GlcN también porta un sulfato fijo al carbono 6.

Alrededor de 90% de los residuos ácido urónico es **IdUA**. En un inicio, todos los ácidos urónicos son GlcUA, pero una 5′-epimerasa convierte alrededor de 90% de los residuos GlcUA en IdUA después de que se forma la cadena de polisacárido. La molécula de proteína del proteoglucano heparina es singular; consta de modo exclusivo de residuos serina y glicina. Cerca de dos terceras partes de los residuos serina contienen cadenas de GAG, por lo general de 5 a 15 kDa, pero a veces de tamaño considerablemente mayor. La heparina se encuentra en los gránulos de **células cebadas** y en el hígado, los pulmones y la piel.

Heparán sulfato

Esta molécula se encuentra en muchas **superficies celulares** como un proteoglucano, y es extracelular. Contiene **GlcN** con menos N-sulfatos que la heparina y, al contrario de esta última, su ácido urónico predominante es **GlcUA**.

Dermatán sulfato

Esta sustancia se encuentra ampliamente distribuida en tejidos de animales. Su estructura es similar a la del condroitín sulfato, salvo porque en lugar de un GlcUA en el enlace β-1,3 a GalNAc, contiene un **IdUA** en un enlace α-1,3 a **GalNAc**. La formación del IdUA ocurre, al igual que en la heparina y el heparán sulfato, mediante 5′-epimerización de GlcUA. Dado que esto es regulado por el grado de sulfación, y puesto que la sulfación es incompleta, el dermatán sulfato contiene disacáridos **tanto** IdUA-GalNAc **como** GlcUA-GalNAc.

Las deficiencias de enzimas que degradan glucosaminoglucanos ocasionan mucopolisacaridosis

Tanto las **exoglucosidasas** como las **endoglucosidasas** degradan GAG. Al igual que casi todas las otras biomoléculas, los GAG están sujetos a **recambio**; se sintetizan y se degradan. En tejidos de adulto, los GAG por lo general muestran recambio relativamente **lento**; su vida media es de días a semanas.

El entendimiento de las vías de degradación para GAG, como en el caso de las glucoproteínas (cap. 47) y de los glucoesfingolípidos (cap. 24), se ha auxiliado mucho por la elucidación de las deficiencias enzimáticas específicas que suceden en ciertos **errores congénitos del metabolismo**. Cuando están involucrados GAG, estos errores congénitos se denominan **mucopolisacaridosis** (cuadro 48-7).

Los GAG se **degradan** por medio de una batería de **hidrolasas lisosómicas**, las cuales incluyen ciertas **endoglucosidasas**, diversas **exoglucosidasas** y **sulfatasas**, que por lo general actúan en secuencia para degradar los diversos GAG. Varias de ellas se indican en el cuadro 48-7.

Las **mucopolisacaridosis** comparten un mecanismo causal (fig. 48-10); por lo regular se heredan de una manera **autosómica recesiva**; los **síndromes de Hurler** y de **Hunter** tal vez son los más ampliamente estudiados. Ninguno es frecuente. El cuadro 48-8 resume las **características generales** de estas enfermedades y en el cuadro 48-9, las **pruebas de laboratorio** útiles en su diagnóstico. En algunos casos, se obtiene un **antecedente familiar** de una mucopolisacaridosis.

El término **"mucolipidosis"** se introdujo para denotar enfermedades que combinaron características comunes tanto a mucopolisacaridosis como a esfingolipidosis (cap. 24). En el cuadro 48-7 se listan tres mucolipidosis. En la **sialidosis** (mucolipidosis I, ML-I), diversos oligosacáridos derivados de glucoproteínas y ciertos gangliósidos pueden acumularse en los tejidos. En el capítulo 47 se describen la **enfermedad de célula I** (ML-II) y la **seudopolidistrofia de Hurler** (ML-III). El término "mucolipidosis" se retiene porque aún está en uso clínico difundido, pero es inapropiado para estas dos últimas enfermedades dado que su mecanismo causal comprende **ubicación inadecuada** de ciertas enzimas lisosómicas. En el capítulo 47 también se describen los defectos genéticos del catabolismo de las cadenas de oligosacárido de glucoproteínas (p. ej., manosidosis, fucosidosis). Casi todos estos defectos se caracterizan por excreción incrementada de diversos fragmentos de glucoproteínas en la orina, que se acumulan debido al bloqueo metabólico, como en el caso de las mucolipidosis.

La **hialuronidasa** es una enzima importante involucrada en el catabolismo tanto del ácido hialurónico como del condroitín sulfato. Es una endoglucosidasa ampliamente distribuida que divide enlaces hexosaminídicos. A partir del ácido hialurónico, la enzima generará un tetrasacárido, con la estructura GlcUA-β-1,3-GlcNAc-β-1,4$)_2$, que se puede degradar más mediante una β-glucuronidasa y β-*N*-acetilhexosaminidasa. Sorprende que al parecer sólo se ha reportado un caso de una deficiencia genética manifiesta de esta enzima (OMIM 601492).

CUADRO 48-7 **Defectos bioquímicos y pruebas diagnósticas en las mucopolisacaridosis (MPS)**

Nombre	Designación alternativa[1,2]	Defecto enzimático	Metabolitos urinarios
Mucopolisacaridosis			
Hurler (OMIM 607014), Scheie (OMIM 607016), Hurler-Scheie (OMIM 607015)	MPS I	α-L-Iduronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato
Hunter (OMIM 309900)	MPS II	Iduronato sulfatasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato
Sanfilippo A (OMIM 252900)	MPS IIIA	Heparán sulfato *N*-sulfatasa (sulfamidasa)	Heparán sulfato
Sanfilippo B (OMIM 252920)	MPS IIIB	α-*N*-Acetilglucosaminidasa	Heparán sulfato
Sanfilippo C (OMIM 252930)	MPS IIIC	α-Glucosaminida *N*-acetiltransferasa	Heparán sulfato
Sanfilippo D (OMIM 252940)	MPS IIID	*N*-Acetilglucosamina 6-sulfatasa	Heparán sulfato
Morquio A (OMIM 253000)	MPS IVA	Galactosamina 6-sulfatasa	Queratán sulfato, condroitín 6-sulfato
Morquio B (OMIM 253010)	MPS IVB	β-Galactosidasa	Queratán sulfato
Maroteaux-Lamy (OMIM 253200)	MPS VI	*N*-Acetilgalactosamina 4-sulfatasa (arilsulfatasa B)	Dermatán sulfato
Sly (OMIM 253220)	MPS VII	β-Glucuronidasa	Dermatán sulfato, heparán sulfato, condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato
Mucolipidosis			
Sialidosis (OMIM 256550)	ML I	Sialidasa (neuraminidasa)	Fragmentos de glucoproteína
Enfermedad de célula I (OMIM 252500)	ML II	*N*-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa (de este modo, las hidrolasas ácidas carecen de residuos fosfomanosil)	Fragmentos de glucoproteína
Seudopolidistrofia de Hurler (OMIM 252600)	ML III	Igual que para ML II, pero la deficiencia es incompleta	Fragmentos de glucoproteína

Fuente: Modificado y reproducido, con autorización, de DiNatale P, Neufeld EF: The biochemical diagnosis of mucopolysaccharidoses, mucolipidoses and related disorders. En: *Perspectives in Inherited Metabolic Diseases*, vol 2. Barr B *et al*. (editores). Editiones Ermes (Milán), 1979.
[1] Pueden usarse fibroblastos, leucocitos, tejidos, células de líquido amniótico, o suero, para la valoración de muchas de las enzimas anteriores. Los sujetos que tienen estos trastornos muestran diversos datos clínicos que pueden incluir opacidad corneal, retraso mental, rigidez de articulaciones, anormalidades cardiacas, hepatoesplenomegalia y estatura corta, dependiendo de la enfermedad específica y de su gravedad.
[2] Ya no se emplea el término MPS V. No se ha confirmado la existencia de MPS VIII (deficiencia sospechada de glucosamina 6-sulfatasa: OMIM 253230). Se ha informado por lo menos un caso de deficiencia de hialuronidasa (MPS IX; OMIM 601492).

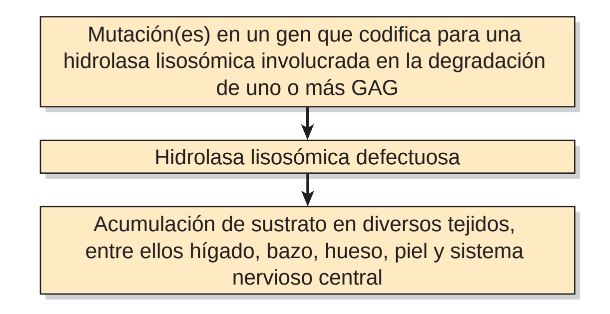


FIGURA 48-10 Esquema simplificado de la causa de una mucopolisacaridosis, como el síndrome de Hurler (OMIM 607014), en el cual la enzima afectada es α-L-iduronidasa. La acumulación notoria de los GAG en los tejidos que se mencionan en la figura podría suscitar hepatomegalia, esplenomegalia, alteraciones del crecimiento, facies tosca y retraso mental, respectivamente.

Los proteoglucanos tienen muchas funciones

Como se indicó, los **proteoglucanos** son moléculas bastante complejas, y se encuentran en **cada tejido** del organismo, principalmente en la ECM o “sustancia fundamental”. Ahí, se asocian entre sí y con los otros componentes estructurales principales de la matriz, colágeno y elastina, de modos bastante específicos. Algunos proteoglucanos se unen a colágeno y otros a elastina. Estas interacciones tienen importancia en la determinación de la organización estructural de la matriz. Algunos proteoglucanos (p. ej., decorina) también pueden **unirse a factores de crecimiento** como TGF-β, y modular sus efectos sobre las células. Además, algunos de ellos interactúan con ciertas **proteínas adhesivas** como fibronectina y la-

CUADRO 48-8 Resumen de las principales características de las mucopolisacaridosis

Muestran una evolución progresiva crónica.
Afectan diversos sistemas (o sea, son trastornos multisistémicos).
Muchos pacientes muestran organomegalia (p. ej., puede haber hepatomegalia y esplenomegalia).
Los enfermos suelen tener disostosis múltiple (caracterizada por anormalidades graves del desarrollo del cartílago y hueso, y retraso mental).
Los pacientes a menudo muestran facies (aspecto facial) anormal.
Otros signos que en ocasiones se encuentran son anormalidades de la audición, la visión, el sistema cardiovascular y el desarrollo mental.

CUADRO 48-9 Algunas pruebas de laboratorio usadas en el diagnóstico de una mucopolisacaridosis

Examen general de orina para buscar la presencia de cantidades aumentadas de GAG.
Valoraciones de enzimas sospechadas en leucocitos, fibroblastos o posiblemente suero.
Biopsia de tejido con análisis subsiguiente de GAG por medio de electroforesis.
Uso de pruebas de gen específicas.
Ahora se puede llevar a cabo diagnóstico prenatal en al menos ciertos casos empleando células de líquido amniótico o biopsia de vellosidades coriónicas.

CUADRO 48-10 Algunas funciones de los glucosaminoglucanos y los proteoglucanos

• Actúan como componentes estructurales de la ECM
• Tienen interacciones específicas con colágeno, elastina, fibronectina, laminina y otras proteínas como factores de crecimiento
• Como polianiones se unen a policationes y cationes
• Contribuyen a la turgencia típica de diversos tejidos
• Actúan como tamices en la ECM
• Facilitan la migración celular (HA)
• Participan en la compresibilidad del cartílago en la carga de peso (HA, CS)
• Participan en la transparencia de la córnea (KS I y DS)
• Tienen una función estructural en la esclerótica (DS)
• Actúan como anticoagulante (heparina)
• Son componentes de las membranas plasmáticas, donde pueden actuar como receptores y participar en la adherencia celular y en interacciones entre una célula y otra (p. ej., HS)
• Determinan la selectividad de carga del glomérulo renal (HS)
• Son componentes de vesículas sinápticas y de otras vesículas (p. ej., HS)

Abreviaturas: ECM, matriz extracelular; HA, ácido hialurónico; CS, condroitín sulfato; KS I, queratán sulfato I; DS, dermatán sulfato; HS, heparán sulfato.

CUADRO 48-11 Las principales proteínas que se encuentran en el hueso[1]

Proteínas	Comentarios
Colágenos	
Colágeno tipo I	Alrededor de 90% de la proteína ósea total. Compuesto de dos cadenas α1 (I) y una cadena α2 (I).
Colágeno tipo V	Componente menor.
Proteínas no colágeno	
Proteínas plasmáticas	Mezcla de diversas proteínas plasmáticas.
Proteoglucanos[2] CS-PG I (biglucano)	Contiene dos cadenas de GAG; se encuentra en otros tejidos.
CS-PG II (decorina)	Contiene una cadena de GAG; se encuentra en otros tejidos.
CS-PG III	Específica para hueso.
Proteína SPARC[3] ósea (osteonectina)	No específica para hueso.
Osteocalcina (proteína Gla ósea)	Contiene residuos γ-carboxiglutamato que se unen a la hidroxiapatita. Específica para hueso.
Osteopontina	No específica para hueso. Glucosilada y fosforilada.
Sialoproteína ósea	Específica para hueso. Muy glucosilada y sulfatada en la tirosina.
Proteínas morfogenéticas óseas (BMP)	Una familia (ocho o más) de proteínas secretadas con diversas acciones sobre el hueso; muchas inducen crecimiento de hueso ectópico.
Osteoprotegerina	Inhibe la osteoclastogénesis.

[1]Se han atribuido diversas funciones a las proteínas no colágeno, entre ellas algunas en la mineralización; no obstante, casi todas aún son especulativas. Se considera poco probable que las proteínas no colágeno que no son específicas para hueso tengan una participación clave en la mineralización. Varias otras proteínas también están presentes en el hueso, entre ellas una proteína de matriz ácida con alto contenido de tirosina (TRAMP), algunos factores de crecimiento (p. ej., TGFβ) y enzimas involucradas en la síntesis de colágeno (p. ej., lisil oxidasa).
[2]CS-PG, condroitín sulfato-proteoglucano; éstas son similares a los PG dermatán sulfato (DS-PG) del cartílago (cuadro 48-13).
[3]SPARC, proteína secretada ácida y con alto contenido de cisteína.

minina (véase antes), que también se encuentran en la matriz. Los GAG presentes en los proteoglucanos son **polianiones** y, en consecuencia, se unen a policationes y cationes como Na^+ y K^+. Esta última capacidad atrae agua por medio de presión osmótica hacia la matriz extracelular, y contribuye a su turgencia. Los GAG también forman **gel** a concentraciones relativamente bajas. Debido a la naturaleza extendida larga de las cadenas de polisacárido de GAG, y su capacidad para formar gel, los proteoglucanos pueden actuar como **tamiz**, al restringir el paso de macromoléculas grandes hacia la ECM pero permitir difusión relativamente libre de moléculas pequeñas. De nuevo, debido a sus estructuras extendidas y los enor-

mes agregados macromoleculares que suelen formar, ocupan un **volumen grande** de la matriz en comparación con las proteínas.

Algunas funciones de GAG y proteoglucanos específicos

La concentración del **ácido hialurónico** es particularmente alta en tejidos embrionarios, y se cree que tiene importancia en permitir la **migración celular** durante la morfogénesis y la reparación de heridas. Su capacidad para atraer agua hacia la matriz extracelular y, así, "aflojarla" quizá tenga importancia a este respecto. Las concentraciones altas de ácido hialurónico y condroitín sulfatos presentes en el **cartílago** contribuyen a su compresibilidad (véase más adelante).

Los **condroitín sulfatos** están localizados en sitios de calcificación en el **hueso** endocondral y se encuentran también en el **cartílago**. Asimismo, están situados dentro de ciertas **neuronas**, y tal vez proporcionen una estructura endoesquelética, lo que ayuda a mantener su forma.

Tanto el **queratán sulfato I** como el **dermatán sulfato** están presentes en la **córnea**. Yacen entre fibrillas de colágeno, y desempeñan una función crucial en la transparencia de la córnea. Los cambios de la composición de proteoglucano que se encuentran en cicatrices corneales desaparecen cuando sana la córnea. La presencia de dermatán sulfato en la **esclerótica** quizá también tenga una participación en el mantenimiento de la forma general del ojo. El queratán sulfato I también se encuentra en el **cartílago**.

La **heparina** es un importante **anticoagulante**. Se une con los factores IX y XI, pero su interacción más importante es con la **antitrombina plasmática** (cap. 51). La heparina también puede unirse de manera específica a la **lipoproteína lipasa** presente en las paredes de los capilares, lo que se traduce en una liberación de esta enzima hacia la circulación.

Ciertos proteoglucanos (p. ej., **heparán sulfato**) se relacionan con la membrana plasmática de las células; sus proteínas centrales en realidad abarcan esa membrana. En ella pueden actuar como **receptores** y participar en la mediación del **crecimiento celular** y la **comunicación entre una célula** y **otra**. La fijación de células a su sustrato en cultivo está mediada al menos en parte por el heparán sulfato. Este proteoglucano también se encuentra en la **membrana basal de los riñones** junto con el colágeno tipo IV y la laminina (véase antes), donde desempeña una importante función en la determinación de la selectividad de carga de la filtración glomerular.

Los proteoglucanos también se encuentran en **sitios intracelulares**, como el núcleo; no se ha dilucidado su función en este organelo. Están presentes en algunos gránulos de almacenamiento o secretorios, como los gránulos cromafines de la médula suprarenal. Se ha postulado que participan en liberación del contenido de esos gránulos. El cuadro 48-10 resume las diversas funciones de los GAG.

Vínculos con enfermedades importantes y con el envejecimiento

El ácido hialurónico puede tener importancia en permitir que las **células tumorales migren** a través de la ECM. Dichas células pueden inducir a los fibroblastos para que sinteticen cantidades muy aumentadas de este GAG, lo que tal vez facilita su propia diseminación. Algunas células tumorales tienen menos heparán sulfato en su superficie, y esto puede participar en la **falta de adhesividad** que muestran estas células.

La íntima de la **pared arterial** contiene proteoglucanos ácido hialurónico y condroitín sulfato, dermatán sulfato y heparán sulfato. De estos proteoglucanos, el dermatán sulfato se une a lipoproteínas de baja densidad plasmáticas. Más aún, el dermatán sulfato parece ser el principal GAG sintetizado por las células de músculo liso arterial. Puesto que son estas células las que proliferan en **lesiones ateroscleróticas** en arterias, el dermatán sulfato quizá tenga una función importante en la formación de la placa aterosclerótica.

En diversos tipos de **artritis**, los proteoglucanos pueden actuar como **autoantígenos**, lo que contribuye a las características patológicas de estas enfermedades. La cantidad de condroitín sulfato en el cartílago disminuye con la edad, mientras que las cantidades de queratán sulfato y ácido hialurónico se incrementan. Estos cambios pueden contribuir a la aparición de **osteoartritis**, al igual que la actividad aumentada de la enzima agrecanasa, que actúa para degradar el agrecano. Con el **envejecimiento** también se observan cambios de las cantidades de ciertos GAG en la piel y ayudan a explicar los cambios característicos que se notan en este órgano en ancianos.

Una interesante nueva fase de la investigación sobre proteoglucanos se está abriendo con los datos de que las mutaciones que afectan proteoglucanos individuales o las enzimas necesarias para su síntesis alteran la regulación de **vías emisoras de señal específicas** en *Drosophila* y *Caenorhabditis elegans*, lo que afecta el **desarrollo**; parece probable que existan efectos similares en ratones y seres humanos.

EL HUESO ES UN TEJIDO CONJUNTIVO MINERALIZADO

El hueso contiene material tanto **orgánico** como **inorgánico**. El material **orgánico** es principalmente **proteína**. En el cuadro 48-11 se listan las principales proteínas del hueso; el **colágeno tipo I** es la principal proteína; incluye 90 a 95% del material orgánico. También se encuentra colágeno tipo V en pequeñas cantidades, al igual que varias proteínas no colágeno, algunas de las cuales son relativamente específicas para el hueso. El componente **inorgánico** o mineral es principalmente **hidroxiapatita** cristalina —$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$— junto con sodio, magnesio, carbonato y fluoruro; alrededor de 99% del calcio corporal está en el hueso (cap. 44). La hidroxiapatita confiere al hueso la fuerza y resistencia requeridas por sus funciones fisiológicas.

El hueso es una **estructura dinámica** que pasa por ciclos continuos de remodelado, que constan de resorción seguida por depósito de nuevo tejido óseo. Este remodelado permite que el hueso se adapte a señales tanto físicas (p. ej., incrementos de la carga de peso) como hormonales.

Los principales tipos de células involucrados en la resorción y el depósito de hueso son los **osteoclastos** y los **osteoblastos** (fig. 48-11). Los primeros se relacionan con resorción, y los segundos con depósito de hueso. Los osteocitos son descendientes de los osteoblastos; también parecen participar en el mantenimiento de la matriz ósea, pero no se comentarán más aquí.

FIGURA 48-11 Ilustración esquemática de las principales células presentes en el hueso membranoso. Los osteoblastos (de color más claro) están sintetizando colágeno tipo I, que forma una matriz que atrapa células. A medida que ocurre esto, los osteoblastos se diferencian de manera gradual para convertirse en osteocitos. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

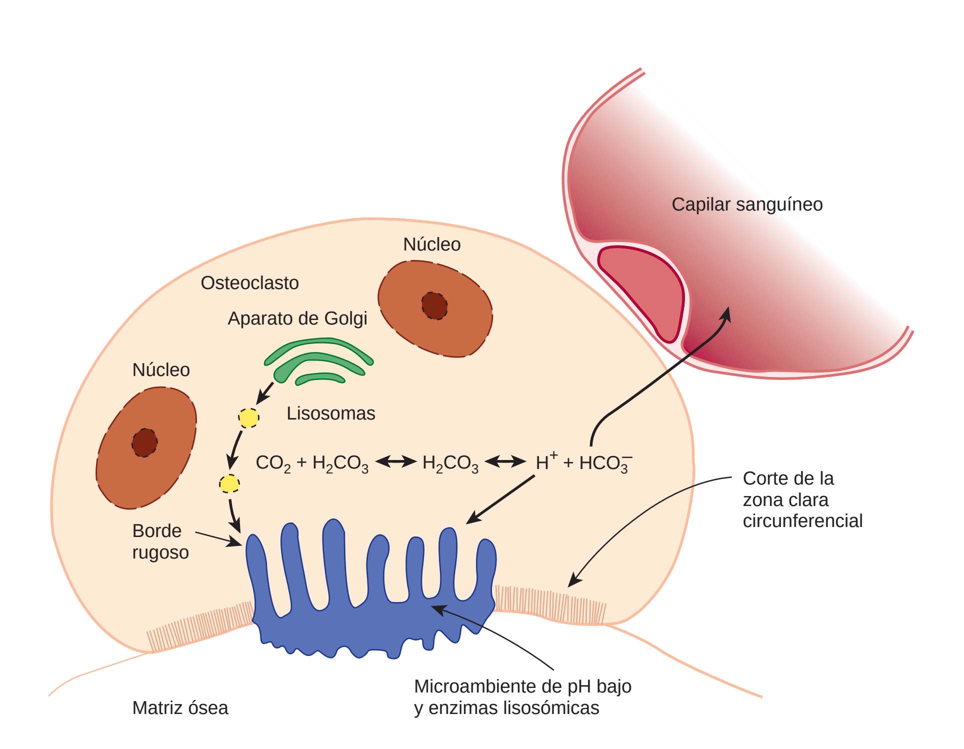


FIGURA 48-12 Ilustración esquemática de algunos aspectos de la función del osteoclasto en la resorción ósea. Enzimas lisosómicas y iones de hidrógeno se liberan hacia el microambiente confinado creado por la unión entre matriz ósea y la zona clara periférica del osteoclasto. La acidificación de este espacio confinado facilita la disolución del fosfato de calcio desde el hueso, y es el pH óptimo para la actividad de hidrolasas lisosómicas. La matriz ósea se elimina así, y los productos de resorción ósea son captados hacia el citoplasma del osteoclasto, probablemente se digieren más, y se transfieren hacia capilares. La ecuación química que se muestra en la figura se refiere a la acción de la anhidrasa carbónica II, descrita en el texto. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas,* 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

Los **osteoclastos** son células multinucleadas derivadas de células madre hematopoyéticas pluripotenciales. Los osteoclastos poseen un dominio de membrana apical, que muestra un borde rugoso que es clave en la resorción ósea (fig. 48-12). Una **ATPasa** translocadora de protón expulsa protones a través del borde rugoso hacia el área de resorción, que es el microambiente de pH bajo que se muestra en la figura. Esto produce decremento del pH local a 4.0 o menos, lo que aumenta la solubilidad de la hidroxiapatita y permite que ocurra desmineralización. Se liberan proteasas ácidas lisosómicas que digieren las ahora accesibles proteínas de matriz. Los **osteoblastos** —células mononucleares derivadas de precursores mesenquimatosos pluripotenciales— sintetizan casi todas las proteínas que se encuentran en el hueso (cuadro 48-11), así como diversos factores de crecimiento y citocinas. Se encargan del depósito de nueva matriz ósea (osteoide) y su mineralización subsiguiente. Los osteoblastos **controlan la mineralización** al regular el paso de iones de calcio y fosfato a través de sus membranas de superficie. Estas últimas contienen **fosfatasa alcalina**, que se emplea para generar iones de fosfato a partir de fosfatos orgánicos. Los mecanismos involucrados en la mineralización no se entienden por completo, pero varios factores han quedado implicados. La fosfatasa alcalina contribuye a la mineralización, pero no es suficiente por sí misma. Se han descrito vesículas pequeñas (vesículas de matriz) que contienen calcio y fosfato en sitios de mineralización, aunque no está clara su función. El **colágeno tipo I** parece ser necesario; la mineralización es evidente en las brechas entre moléculas sucesivas. El interés reciente se

CUADRO 48-12 Algunas enfermedades metabólicas y genéticas que afectan el hueso y el cartílago

Enfermedad	Comentarios
Enanismo	Suele deberse a una deficiencia de hormona de crecimiento, pero tiene muchas otras causas.
Raquitismo	Debido a deficiencia de vitamina D durante la niñez.
Osteomalacia	Debida a deficiencia de vitamina D durante la adultez.
Hiperparatiroidismo	El exceso de hormona paratiroidea causa resorción ósea.
Osteogénesis imperfecta (p. ej., OMIM 166200)	Debida a diversas mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2* que afectan la síntesis y estructura del colágeno tipo I.
Osteoporosis (OMIM 166710)	Por lo general posmenopáusica; en otros casos es más gradual y se relaciona con la edad; un pequeño número de casos se debe a mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, y posiblemente en el gen que codifica para receptor de vitamina D.
Osteoartritis	Un pequeño número de casos se debe a mutaciones en los genes *COL1A*.
Varias condrodisplasias	Debidas a mutaciones en los genes *COL2A1*.
Síndrome de Pfeiffer[1] (OMIM 101600)	Mutaciones en el gen que codifica para receptor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR1).
Síndromes de Jackson-Weiss (OMIM 123150) y Crouzon (OMIM 123500)[1]	Mutaciones en el gen que codifica para FGFR2.
Acondroplasia (OMIM 100800) y displasia tanatofórica[2] (OMIM 187600)	Mutaciones en el gen que codifica para FGFR3.

[1] Los síndromes de Pfeiffer, Jackson-Weiss y Crouzon son síndromes de craneosinostosis; este último término significa fusión prematura de las suturas en el cráneo.
[2] La displasia tanatofórica (del griego *thanatos* "muerte" + *phoros* "portar") es la más frecuente displasia neonatal mortal del esqueleto; muestra características similares a las de la acondroplasia homocigótica.

ha enfocado en las **fosfoproteínas ácidas**, como la sialoproteína ósea, que actúan en sitios de nucleación. Estas proteínas contienen motivos (p. ej., tramos poli-Asp y poli-Glu) que se unen al calcio y pueden proporcionar un andamio para la mineralización. Algunas macromoléculas, como ciertos proteoglucanos y glucoproteínas, también actúan como **inhibidores** de la nucleación.

Se estima que alrededor de 4% del hueso compacto se **renueva anualmente** en el adulto sano típico, mientras que aproximadamente 20% del hueso trabecular es remplazado.

Muchos factores participan en la **regulación del metabolismo óseo**; aquí únicamente se mencionarán algunos (véase el caso núm. 15 sobre osteoporosis, cap. 54). Algunos **estimulan a los osteoblastos** (p. ej., hormona paratiroidea y 1,25-dihidroxicolecalciferol), y otros los **inhiben** (p. ej., corticosteroides). La hormona paratiroidea y el 1,25-dihidroxicolecalciferol también estimulan a los osteoclastos, mientras que la calcitonina y los estrógenos los inhiben.

EL HUESO ES AFECTADO POR MUCHOS TRASTORNOS METABÓLICOS Y GENÉTICOS

El cuadro 48-12 lista varios de los ejemplos de mayor importancia de trastornos metabólicos y genéticos que afectan el hueso.

La **osteogénesis imperfecta** (huesos frágiles) se caracteriza por fragilidad anormal de los huesos. Las escleróticas a menudo son anormalmente delgadas y translúcidas, y pueden tener aspecto azul debido a una deficiencia de tejido conjuntivo. Se han reconocido **cuatro tipos** de esta enfermedad (leve, extensa, grave y variable), de los cuales el tipo extenso que sucede en el recién nacido es el más ominoso. Los lactantes afectados pueden nacer con múltiples fracturas y no sobrevivir. Más de 90% de los pacientes con osteogénesis imperfecta tiene mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*, que codifican para cadenas proα1(I) y proα2(I), respectivamente. Se han documentado más de 100 mutaciones en estos dos genes, y comprenden deleciones de gen parciales y duplicaciones. Otras mutaciones afectan el empalme del RNA, y el tipo más frecuente da por resultado **remplazo de glicina** por otro aminoácido más voluminoso, que afecta la formación de la triple hélice. En general, estas mutaciones originan menor expresión de colágeno o de cadenas proα estructuralmente anormales que se montan hacia **fibrillas anormales**, lo que debilita la estructura general del hueso. Cuando hay una cadena anormal, puede interactuar con dos cadenas normales, pero tal vez se impide el plegado, lo que causa degradación enzimática de todas las cadenas. Esto se llama "**suicidio del procolágeno"** y es un ejemplo de una mutación negativa dominante, un resultado que suele observarse cuando una proteína consta de múltiples subunidades diferentes.

La **osteopetrosis** (enfermedad de hueso de mármol), caracterizada por **incremento de la densidad ósea**, se debe a la incapacidad para resorber hueso. Una forma ocurre junto con acidosis tubular renal y calcificación cerebral. Se debe a mutaciones en el gen (localizado en el cromosoma 8q22) que codifica para la **anhidrasa carbónica II** (CA II), una de cuatro isozimas de la anhidrasa carbónica presentes en tejidos de seres humanos. A continuación se muestra la reacción catalizada por la anhidrasa carbónica:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

En osteoclastos involucrados en la resorción ósea, la CA II al parecer proporciona protones para neutralizar los iones de OH^- dejados dentro de la célula cuando se bombean iones de H^+ a través de sus bordes rugosos (véase antes). De este modo, **si hay actividad deficiente de CA II** en osteoclastos, no sucede resorción ósea normal, y el resultado es osteopetrosis. No está claro el mecanismo de calcificación cerebral, mientras que la acidosis tubular renal refleja actividad deficiente de CA II en los túbulos renales.

La **osteoporosis** (véase la historia de caso núm. 15 en el cap. 54) es una reducción progresiva generalizada de la masa de tejido

óseo por unidad de volumen, lo que suscita debilidad del esqueleto. La proporción entre **elementos minerales** y **orgánicos** no cambia en el hueso restante normal. Ocurren con mucha facilidad fracturas de diversos huesos, como la cabeza del fémur, y representan una enorme carga tanto para los enfermos afectados como para el presupuesto de la sociedad para cuidado de la salud. Entre otros factores, los **estrógenos** y las citocinas **interleucinas 1 y 6** parecen tener una íntima participación en el origen de la osteoporosis.

LOS PRINCIPALES COMPONENTES DEL CARTÍLAGO SON EL COLÁGENO TIPO II Y CIERTOS PROTEOGLUCANOS

En el cuadro 48-13 se listan las **principales proteínas** del cartílago hialino (el principal tipo de cartílago). El **colágeno tipo II** es la principal proteína (fig. 48-13); también hay otros tipos de colágeno menores. Además de estos componentes, el cartílago elástico contiene elastina, y el cartílago fibroelástico contiene colágeno tipo I. El cartílago contiene **proteoglucanos**, que pueden tener importancia en su compresibilidad. El **agrecano** (alrededor de 2×10^3 kDa) es el principal proteoglucano. Tiene una estructura muy compleja (fig. 48-14), que contiene varios GAG (ácido hialurónico, condroitín sulfato y queratán sulfato) y proteínas tanto de enlace como central. La proteína central contiene tres dominios: A, B y C. El ácido hialurónico se une de manera no covalente al dominio A de la proteína central, así como a la proteína de enlace, que estabiliza las interacciones entre hialuronato y proteína central. Las cadenas de queratán sulfato están situadas en el dominio B, mientras que las de condroitín sulfato lo están en el dominio C; estos dos tipos de GAG están unidos de modo covalente a la proteína central. La proteína central también contiene cadenas de oligosacárido tanto O-enlazadas como N-enlazadas.

Los otros proteoglucanos que se encuentran en el cartílago tienen estructuras más simples que el agrecano.

La **condronectina** participa en la fijación de colágeno tipo II a condrocitos.

CUADRO 48-13 Las principales proteínas que se encuentran en el cartílago

Proteínas	Comentarios
Proteínas colágeno	
Colágeno tipo II	Constituye 90 a 98% del colágeno del cartílago articular. Está compuesto de tres cadenas α1(II).
Colágenos V, VI, IX, X, XI	El colágeno tipo IX forma enlaces cruzados con el tipo II. El tipo XI puede ayudar a controlar el diámetro de fibrillas tipo II.
Proteínas no colágeno	
Proteoglucanos	
Agrecano	El principal proteoglucano del cartílago.
Proteoglucano grande sin agregación	Se encuentra en algunos tipos de cartílago.
DS-PG I (biglicano)[1]	Similar a la CS-PG I del hueso.
DS-PG II (decorina)	Similar a la CS-PG II del hueso.
Condronectina	Puede participar en la unión del colágeno tipo II a la superficie del cartílago.
Ancorina C II	Puede unir el colágeno tipo II a la superficie del condrocito.

[1] Las proteínas centrales de DS-PG I y DS-PG II son homólogas a las de CS-PG I y CS-PG II que se encuentran en el hueso (cuadro 48-11). Una posible explicación es que los osteoblastos carecen de la epimerasa requerida para convertir el ácido glucurónico en ácido idurónico, el segundo de los cuales se encuentra en el dermatán sulfato.

El cartílago es un tejido avascular y obtiene la mayor parte de sus nutrientes a partir del líquido sinovial. Muestra **recambio** lento pero continuo. Diversas **proteasas** (p. ej., colagenasas y estromalisina) sintetizadas por condrocitos pueden **degradar colágeno** y las otras proteínas que se encuentran en el cartílago. La interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral α (TNFα) parecen estimular la producción de esas proteasas, mientras que el TGFβ y el factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) por lo general ejercen una influencia anabólica sobre el cartílago.

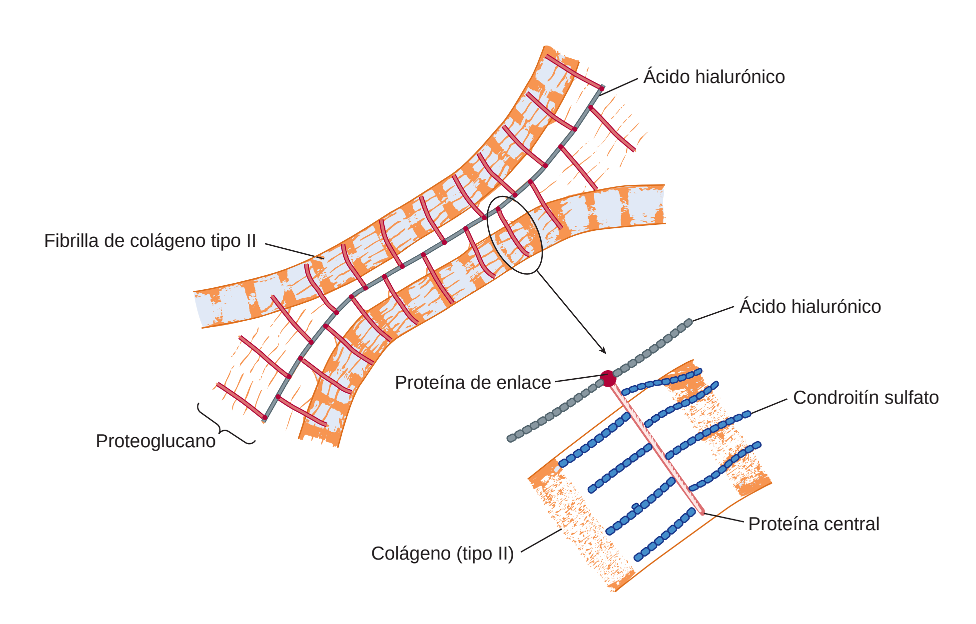


FIGURA 48-13 Representación esquemática de la organización molecular en la matriz de cartílago. Proteínas de enlace unen de modo no covalente la proteína central (color más claro) de proteoglucanos a las moléculas de ácido hialurónico lineales (color más oscuro). Las cadenas laterales de condroitín sulfato del proteoglucano se unen de manera electrostática a las fibrillas de colágeno, lo que forma una matriz con enlaces cruzados. El óvalo esboza el área agrandada en la parte inferior de la figura. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology: Text & Atlas*, 10th ed. McGraw-Hill, 2003.)

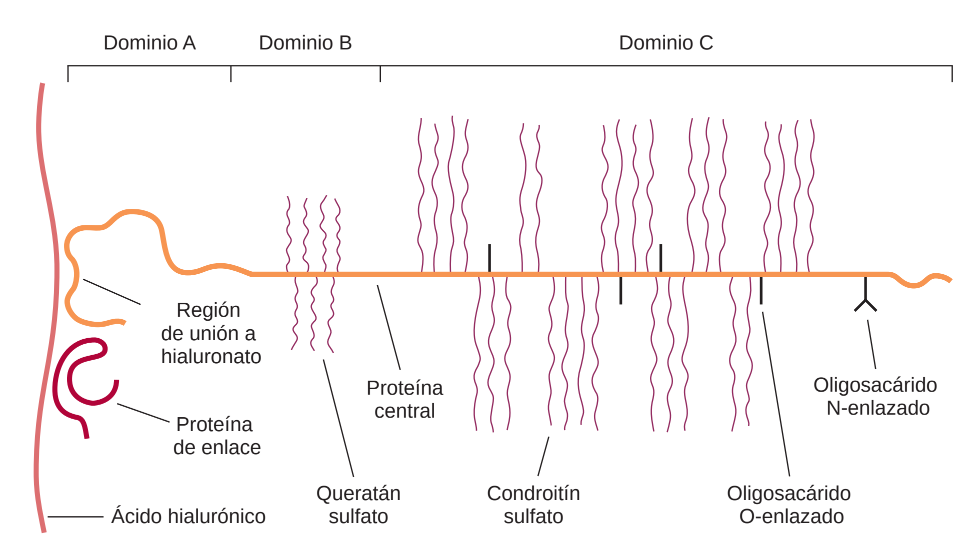


FIGURA 48-14 Diagrama esquemático del agrecano de cartílago nasal de bovino. A la izquierda se muestra una cadena de ácido hialurónico. La proteína central (de alrededor de 210 kDa) tiene tres dominios principales. El dominio A, en su extremo amino terminal, interactúa con aproximadamente cinco disacáridos repetitivos en el hialuronato. La proteína de enlace interactúa tanto con hialuronato como con el dominio A, y estabiliza sus interacciones. Alrededor de 30 cadenas de queratán sulfato están fijas, mediante enlaces GalNAc-Ser, al dominio B. El dominio C contiene aproximadamente 100 cadenas de condroitín sulfato fijas por medio de enlaces Gal-Gal-Xil-Ser, y alrededor de 40 cadenas de oligosacárido O-enlazadas. Una o más cadenas de glucano N-enlazadas también se encuentran cerca del carboxilo terminal de la proteína central. (Reproducida, con autorización, de Moran LA *et al.*: *Biochemistry,* 2nd ed. Neil Patterson Publishers, 1994. Copyright © 1994. Reimpresa con autorización de Pearson Education, Inc.)

LAS BASES MOLECULARES DE LAS CONDRODISPLASIAS INCLUYEN MUTACIONES EN GENES QUE CODIFICAN PARA COLÁGENO TIPO II Y RECEPTORES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS

Las condrodisplasias son un grupo mixto de trastornos hereditarios que afectan el cartílago. Se manifiestan por enanismo con extremidades cortas, y muchas deformidades esqueléticas. Varias de ellas se deben a diversas mutaciones del gen *COL2A1*, lo que lleva a formas anormales de colágeno tipo II. Un ejemplo es el **síndrome de Stickler**, manifestado por degeneración del cartílago articular y del cuerpo vítreo.

La mejor conocida de las condrodisplasias es la **acondroplasia**, La causa más frecuente de **enanismo con extremidades cortas**. Los afectados tienen extremidades cortas, tamaño normal del tronco, macrocefalia y varias otras anormalidades del esqueleto. La enfermedad a menudo se hereda como un rasgo autosómico dominante, pero muchos casos se deben a mutaciones nuevas. En la figura 48-15 se esbozan las bases moleculares de la acondroplasia. La acondroplasia no es un trastorno del colágeno, sino que se debe a mutaciones del gen que codifica para receptor de **factor de crecimiento de fibroblastos 3 (FGFR3)**. Los **factores de crecimiento de fibroblastos** son una familia de al menos nueve proteínas que afectan el crecimiento y la diferenciación de células de origen mesenquimatoso y neuroectodérmico. Sus **receptores** son proteínas transmembrana y forman un subgrupo de la familia del receptor de tirosina cinasas. El FGFR3 es un miembro de este subgrupo, de cuatro, y media las acciones del FGF3 sobre el cartílago. En la mayor parte de los casos de acondroplasia que se han investigado, se halló que las mutaciones comprendieron el nucleótido 1138 y ocasionaron sustitución de glicina por arginina (residuo número 380) en el dominio

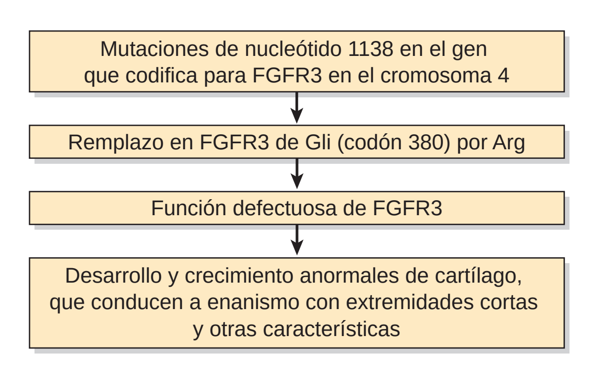


FIGURA 48-15 Esquema simplificado de la causa de la acondroplasia (OMIM 100800). En la mayor parte de los casos estudiados hasta ahora, la mutación ha sido una transición de G a A en el nucleótido 1138. En algunos casos, la mutación fue una transversión de G a C en el mismo nucleótido. Este nucleótido particular es un "área peligrosa" real para mutación. Ambas mutaciones producen el remplazo de un residuo Gli por un residuo Arg en el segmento transmembrana del receptor. También se han reportado algunos casos que comprenden el remplazo de Gli por Cis en el codón 375.

transmembrana de la proteína, lo que lo hace inactivo. En individuos no afectados no se encontró esa mutación.

De manera más bien sorprendente, otras mutaciones en el mismo gen pueden traducirse en **hipocondrodisplasia**, **displasia tanatofórica** (tipos I y II) y el **fenotipo SADDAN** (acondroplasia grave con retraso del desarrollo y acantosis nigricans [esta última es una hiperpigmentación de color pardo a negro de la piel]).

Otras displasias del esqueleto (entre ellas ciertos síndromes de craneosinostosis) también se deben a mutaciones en genes que codifican para receptores de FGF (cuadro 48-12). Se ha hallado que otro tipo de displasia del esqueleto (displasia diastrófica) se debe a mutación de un transportador de sulfato. De este modo, gracias a la tecnología de DNA recombinante, ha empezado una nueva era en la comprensión de las displasias del esqueleto.

RESUMEN

- Los principales componentes de la ECM son las proteínas estructurales colágeno, elastina y fibrilina-1; varias proteínas especializadas (p. ej., fibronectina y laminina), y varios proteoglucanos.
- El colágeno es la proteína más abundante en el reino animal; se han aislado aproximadamente 28 tipos. Todos los colágenos contienen tramos mayores o menores de triple hélice y la estructura repetitiva $(Gli\text{-}X\text{-}Y)_n$.
- La biosíntesis de colágeno es compleja, con muchos eventos postraduccionales, entre ellos hidroxilación de prolina y lisina.
- Las enfermedades vinculadas con síntesis alterada de colágeno incluyen escorbuto, osteogénesis imperfecta, síndrome de Ehlers-Danlos (muchos tipos) y enfermedad de Menkes.
- La elastina confiere extensibilidad y retroceso elástico a los tejidos. La elastina carece de hidroxilisina, secuencias Gli-X-Y, estructura de triple hélice y azúcares, pero contiene enlaces cruzados de desmosina e isodesmosina que no se encuentran en el colágeno.
- La fibrilina-1 se encuentra en las microfibrillas. Las mutaciones del gen que codifica para fibrilina-1 dan por resultado síndrome de Marfan. La citocina TGF-β parece contribuir a la enfermedad cardiovascular.
- Los glucosaminoglucanos (GAG) están constituidos de disacáridos repetitivos que contienen un ácido urónico (glucurónico o idurónico) o hexosa (galactosa) y una hexosamina (galactosamina o glucosamina). También suele haber sulfato.
- Los principales GAG son ácido hialurónico, condroitín 4- y 6-sulfatos, queratán sulfatos I y II, heparina, heparán sulfato y dermatán sulfato.
- Los GAG se sintetizan mediante las acciones secuenciales de una batería de enzimas específicas (glucosiltransferasas, epimerasas, sulfotransferasas, etc.) y se degradan por medio de la acción secuencial de hidrolasas lisosómicas. Las deficiencias genéticas de estas últimas originan mucopolisacaridosis (p. ej., síndrome de Hurler).
- Los GAG se encuentran en tejidos unidos a diversas proteínas (proteínas enlazadoras y proteínas centrales), que constituyen proteoglucanos. Estas estructuras a menudo son de peso molecular muy alto, y desempeñan muchas funciones en los tejidos.
- Muchos componentes de la ECM se unen a proteínas de la superficie celular denominadas integrinas; esto constituye una vía mediante la cual los exteriores de las células pueden comunicarse con sus interiores.
- El hueso y el cartílago son formas especializadas de la ECM. El colágeno I y la hidroxiapatita son los principales constituyentes del hueso. El colágeno II y ciertos proteoglucanos son constituyentes importantes del cartílago.
- La aplicación de tecnología de DNA recombinante está revelando las causas moleculares de diversas enfermedades hereditarias del hueso (p. ej., osteogénesis imperfecta) y el cartílago (p. ej., las condrodistrofias).

REFERENCIAS

Brodsky B, Persikov AV: Molecular structure of the collagen triple helix. Adv Prot Chem 2005;70:301.

Fauci AS et al (editors): *Harrison´s Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Chapter 357, *Heritable Disorders of Connective Tissue;* Chapter 355, *Lysosomal Storage Diseases;* Chapter 326, *Osteoarthritis;* Chapter 346, *Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease;* Chapter 349, *Paget Disease and Other Dysplasias of Bone.*)

Gelb BD: Marfan´s syndrome and related disorders—more tightly connected than we thought. N Engl J Med 2006;354:2250.

Hacker U, Nybakken K, Perrimon N: Heparan sulfate proteoglycans: the sweet side of development. Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6:530.

Handel TM et al: Regulation of protein function by glycosaminoglycans—as exemplified by chemokines. Annu Rev Biochem 2005;74:385.

Iozzo RV: Basement membrane proteoglycans: from cellar to ceiling. Nat Rev Mol Cell Biol 2005;6:645.

Karsenty G: An aggrecanase and osteoarthritis. N Engl J Med 2005;353:522.

Khosla S, Westendorf JJ, Oursler MJ: Building bone to reverse osteoporosis and repair fractures. J Clin Invest 2008;118:421.

Marx J: All in the stroma: cancer´s Cosa Nostra. Science 2008;320:38. (An article that indicates the importance of the ECM in the behavior of cancer cells.)

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (This comprehensive four-volume text and the updated online version [see Chapter 1] contain chapters on disorders of collagen biosynthesis and structure, Marfan syndrome, the mucopolysaccharidoses, achondroplasia, Alport syndrome, and craniosynostosis syndromes.)

Seeman E, Delams PD: Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. N Engl J Med 2006; 354:2250.

Zuscik MJ, Hilton MJ, Zhang X et al: Regulation of chondrogenesis and chondrocyte differentiation by stress. J Clin Invest 2008;118:429.

CAPÍTULO

49

Músculo y citoesqueleto

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las proteínas tienen importancia en el **movimiento** en los ámbitos tanto de órgano (p. ej., músculo esquelético, corazón e intestino) como celular. En este capítulo se describen las funciones de proteínas específicas y algunas otras moléculas clave (p. ej., Ca^{2+}) en la **contracción muscular**. También se presenta una breve cobertura de las **proteínas citoesqueléticas**.

El conocimiento de la base molecular de varias enfermedades que afectan el músculo ha avanzado mucho durante los últimos años. El entendimiento de la base molecular de la **distrofia muscular tipo Duchenne** aumentó mucho cuando se encontró que se debía a mutaciones del gen que codifica para distrofina (véase la historia de caso núm. 7 en el cap. 54). También se ha logrado progreso importante en el entendimiento de la base molecular de la **hipertermia maligna**, una seria complicación en algunos pacientes que reciben ciertos tipos de anestesia. La **insuficiencia cardiaca** es una enfermedad médica muy frecuente, con diversas causas; su terapia racional exige entendimiento de las características bioquímicas del músculo cardiaco. Un grupo de enfermedades que causa insuficiencia cardiaca son las **miocardiopatías**, algunas de las cuales están determinadas por mecanismos genéticos. Se ha encontrado que el **óxido nítrico** (NO) es un importante regulador del tono del músculo liso. Muchos **vasodilatadores** ampliamente usados —como la nitroglicerina, que se utiliza en el tratamiento de angina de pecho— actúan al aumentar la formación de NO. El músculo, debido en parte a su masa, desempeña funciones importantes en el **metabolismo general** del organismo.

EL MÚSCULO TRANSDUCE ENERGÍA QUÍMICA HACIA ENERGÍA MECÁNICA

El músculo es el principal **transductor** bioquímico (máquina) que convierte energía potencial (química) en energía cinética (mecánica). El músculo, el tejido único de mayor tamaño en el cuerpo del ser humano, constituye poco menos de 25% de la masa corporal en el momento del nacimiento, más de 40% en el adulto joven, y poco menos de 30% en el adulto de edad avanzada. Se comentarán aspectos de los tres tipos de músculo que se encuentran en vertebrados: **esquelético**, **cardiaco** y **liso**. El músculo tanto esquelético como cardiaco tiene aspecto **estriado** en la observación al microscopio; el músculo liso es **no estriado**. Si bien el músculo esquelético está bajo el control nervioso voluntario, el control de los músculos tanto cardiaco como liso es involuntario.

El sarcoplasma de las células musculares contiene ATP, fosfocreatina y enzimas glucolíticas

El músculo estriado está compuesto por células de fibras musculares multinucleadas rodeadas por una membrana plasmática eléctricamente excitable, el **sarcolema**. Una célula de fibra muscular individual, que puede extenderse por toda la longitud del músculo, contiene un fascículo de muchas **miofibrillas** dispuestas en paralelo, embebidas en el líquido intracelular llamado **sarcoplasma**. Dentro de este líquido hay glucógeno, los compuestos de alta energía ATP y fosfocreatina, y enzimas de la glucólisis.

El sarcómero es la unidad funcional del músculo

En la figura 49-1 se presenta una perspectiva general del músculo voluntario en varios niveles de organización.

Cuando la **miofibrilla** se examina mediante microscopia electrónica, pueden observarse bandas oscuras y claras alternantes (bandas anisotrópicas, que significa birrefringentes en la luz polarizada, y bandas isotrópicas, que significa no alteradas por la luz polarizada). Así, estas bandas se denominan **bandas A e I**, respectivamente. La región central de la banda A (la banda H) tiene aspecto menos denso que el resto de la banda. La banda I está bisecada por una **línea Z** muy densa y estrecha (fig. 49-2).

El **sarcómero** se define como la región entre dos líneas Z (figs. 49-1 y 49-2) y se repite a lo largo del eje de una fibrilla a distancias de 1 500 a 2 300 nm dependiendo de la etapa de la contracción.

El aspecto **estriado** de los músculos voluntario y cardiaco en estudios con microscopia óptica depende de su alto grado de organización, en la cual la mayor parte de las células de la fibra muscular están alineadas de modo que sus sarcómeros se encuentran en registro paralelo (fig. 49-1).

Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y troponina

Cuando se examinan *miofibrillas* mediante microscopia electrónica, parece ser que cada una está construida por dos tipos de filamentos longitudinales. Un tipo, el **filamento grueso**, confinado a la banda A, contiene principalmente la proteína miosina. Estos filamentos tienen alrededor de 16 nm de diámetro, y están dispuestos en el

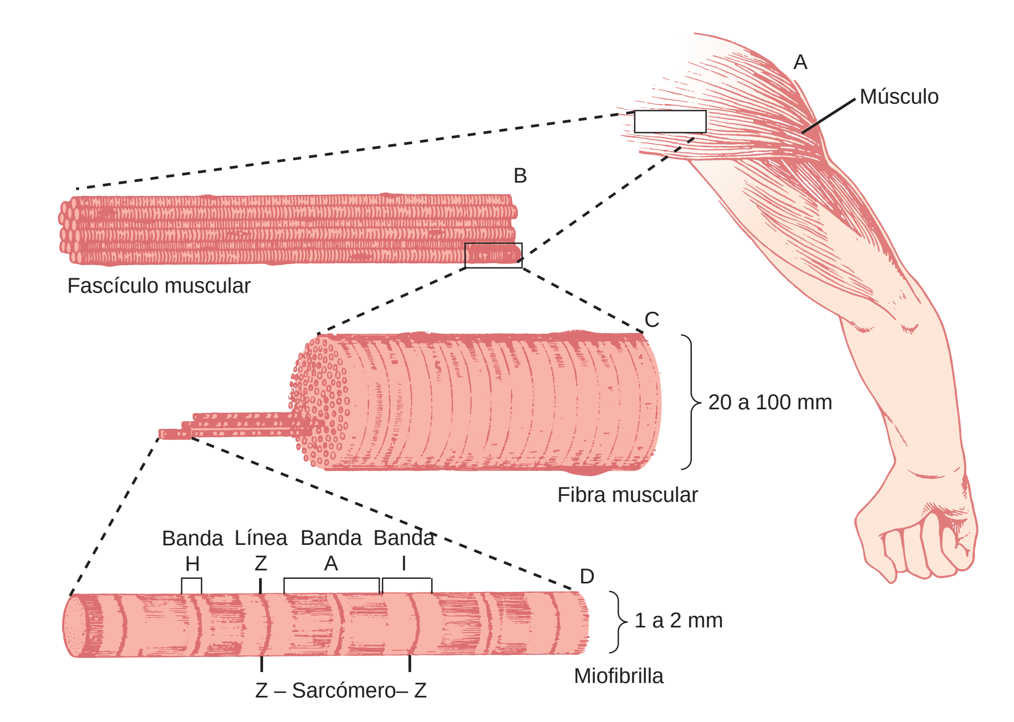


FIGURA 49-1 Estructura del músculo voluntario. El sarcómero es la región entre las líneas Z. (Dibujada por Sylvia Colard Keene. Reproducida, con autorización, de Bloom W, Fawcett DW: *A Textbook of Histology*, 10th ed. Saunders, 1975.)

corte transversal en forma hexagonal (fig. 49-2, centro; corte transversal del lado derecho).

El **filamento delgado** (de alrededor de 7 nm de diámetro) yace en la banda I, y se extiende hacia la banda A pero no hacia su zona H (fig. 49-2). Los filamentos delgados contienen las proteínas actina, tropomiosina y troponina (fig. 49-3). En la banda A, los filamentos delgados están dispuestos alrededor del filamento grueso (miosina) como una disposición hexagonal secundaria. Cada filamento delgado yace de manera simétrica entre tres filamentos gruesos (fig. 49-2, centro; corte transversal de enmedio), y cada filamento grueso está rodeado de manera simétrica por seis filamentos delgados.

Los filamentos grueso y delgado interactúan por medio de **puentes transversales** que surgen a intervalos de 14 nm a lo largo de los filamentos gruesos. Los puentes transversales (fig. 49-2, dibujados como puntas de flecha en cada extremo de los filamentos de miosina, pero no mostrados extendiéndose por completo a través de los filamentos delgados) tienen polaridades opuestas en los dos extremos de los filamentos gruesos. Los dos polos de los filamentos gruesos están separados por un segmento de 150 nm (la banda M, no marcada en la figura) que está libre de proyecciones.

El modelo de puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular

Este modelo fue propuesto de manera independiente durante el decenio de 1950-1959 por Henry Huxley y Andrew Huxley y sus colegas. Se basó en gran parte en observaciones morfológicas cuidadosas en músculo en reposo, extendido y en contracción. Básicamente, cuando el músculo se contrae, no hay cambio de la longitud de los filamentos gruesos y delgados, pero las zonas H y las bandas I se acortan (véase el pie de la fig. 49-2). Así, las disposiciones de filamentos interdigitados deben **deslizarse más allá una de otra** durante la contracción. Los **puentes transversales** que enlazan filamentos gruesos y delgados en ciertas etapas del ciclo de contracción generan la tensión y la sostienen. La tensión creada durante la contracción muscular es proporcional a la superposición de filamento y al número de puentes transversales. Cada cabeza de puente transversal está conectada al filamento grueso por medio de un segmento fibroso flexible que se puede flexionar hacia afuera desde el filamento grueso. Este segmento flexible facilita el contacto de la cabeza con el filamento delgado cuando es necesario, pero también es suficientemente flexible como para adaptarse en el espacio interfilamento.

LA ACTINA Y LA MIOSINA SON LAS PRINCIPALES PROTEÍNAS DEL MÚSCULO

La masa de un músculo está constituida por 75% de agua y más de 20% de proteína. Las dos proteínas principales son la actina y la miosina.

La **actina G** monomérica (43 kDa; G, globular) constituye 25% de la proteína muscular por peso. A fuerza iónica fisiológica y en presencia de Mg^{2+}, la actina G se polimeriza de modo no covalente para formar un doble filamento helicoidal insoluble llamado actina F (fig. 49-3). La fibra de **actina F** tiene 6 a 7 nm de grosor, y una estructura repetitiva cada 35.5 nm.

Las **miosinas** constituyen una familia de proteínas; se han identificado al menos 12 clases en el genoma del ser humano. La miosina que se comenta en este capítulo es la **miosina-II**, y cuando se menciona a la miosina en este libro, se hace referencia a esta especie a menos que se indique lo contrario. La miosina-I es una especie monomérica que se une a las membranas celulares. Puede servir como un enlace entre microfilamentos y la membrana celular en ciertas ubicaciones.

La **miosina** contribuye con 55% de la proteína muscular por peso, y forma los **filamentos gruesos**. Es un hexámero asimétrico

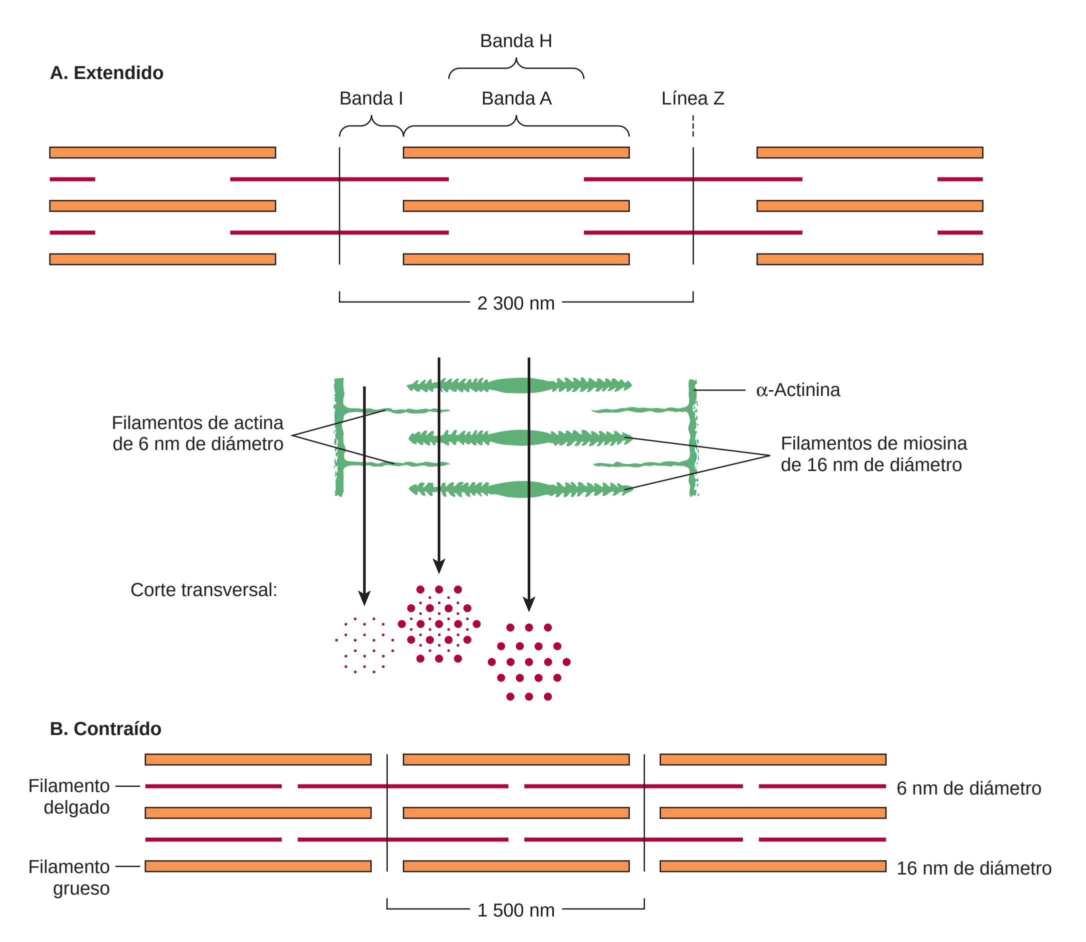


FIGURA 49-2 Disposición de los filamentos en el músculo estriado. **(A)** Extendido. Se muestran las posiciones de las bandas I, A y H en el estado extendido. Los filamentos delgados se superponen en parte con los extremos de los filamentos gruesos, y los filamentos delgados se muestran fijos a las líneas Z (a menudo llamadas discos Z). En la parte inferior de la figura 49-2A hay "puntas de flecha", que apuntan en direcciones opuestas y que emanan de los filamentos de miosina (gruesos). Se observan cuatro filamentos de actina (delgados) fijos a dos líneas Z mediante α-actinina. La región central de los tres filamentos de miosina, libre de puntas de flecha, se llama la banda M (no marcada). Se muestran cortes transversales a través de las bandas M, a lo largo de un área donde los filamentos de miosina y actina se superponen, y de un área en la cual sólo hay filamentos de actina. **(B)** Contraído. Se observa que los filamentos de actina se han deslizado uno hacia otro a lo largo de los lados de las fibras de miosina. Las longitudes de los filamentos gruesos (indicadas por las bandas A) y los filamentos delgados (distancia entre las zonas Z y los bordes adyacentes de las bandas H) no han cambiado. Con todo, las longitudes de los sarcómeros se han reducido (desde 2 300 nm hasta 1 500 nm), al igual que las de las bandas H e I debido a la superposición entre los filamentos grueso y delgado. Estas observaciones morfológicas proporcionaron parte de la base para el modelo del filamento deslizante de la contracción muscular.

con una masa molecular de aproximadamente 460 kDa. La miosina tiene una cola fibrosa que consta de dos hélices entrelazadas. Cada hélice tiene una porción de cabeza globular fija en un extremo (fig. 49-4). El hexámero consta de un par de **cadenas pesadas (H)**, cada una con una masa molecular de aproximadamente 200 kDA, y dos pares de **cadenas ligeras (L)**, cada una con una masa molecular de alrededor de 20 kDA. Las cadenas L difieren; una se denomina la cadena ligera **esencial**, y la otra la cadena ligera **reguladora**. La miosina del músculo esquelético se une a la actina para formar **actomiosina** (actina-miosina), y su actividad de ATPasa intrínseca está notoriamente aumentada en este complejo. Hay isoformas de miosina cuyas cantidades pueden variar en diferentes situaciones anatómicas, fisiológicas y patológicas.

Las estructuras de la actina y de la cabeza de miosina se han determinado mediante cristalografía con rayos X; estos estudios han confirmado varios datos más tempranos respecto a sus estructuras, y han dado lugar también a mucha información nueva.

La digestión limitada de miosina con proteasas ha ayudado a dilucidar su estructura y función

Cuando la miosina se digiere con **tripsina** se generan dos fragmentos de miosina (meromiosinas). La **meromiosina ligera** (LMM) consta de fibras helicoidales α insolubles, agregadas, desde la cola de

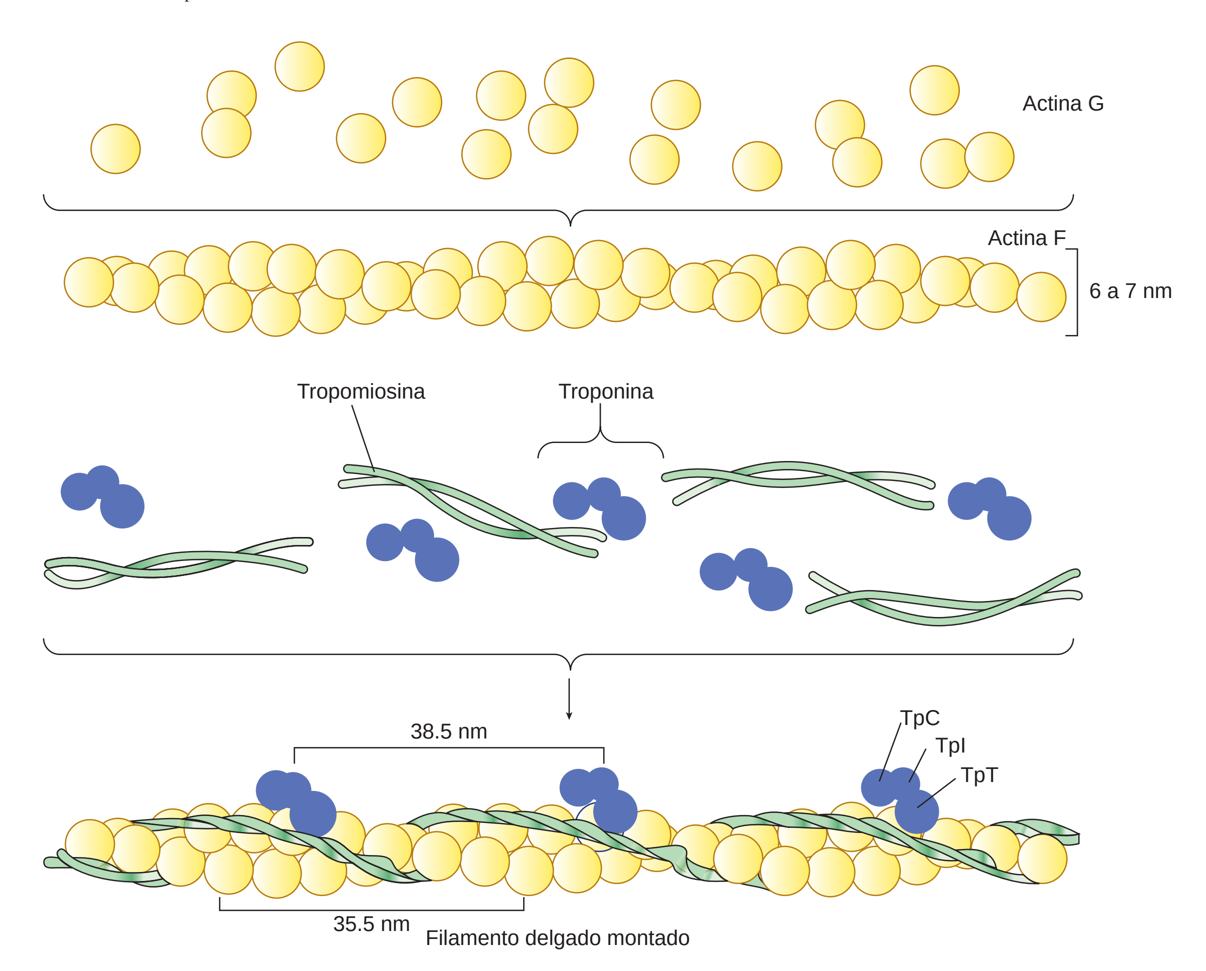


FIGURA 49-3 Representación esquemática del filamento delgado, que muestra la configuración espacial de sus tres componentes proteínicos principales: actina, miosina y tropomiosina. El panel superior muestra moléculas individuales de actina G. El panel de enmedio muestra monómeros de actina montados hacia actina F. También se muestran moléculas individuales de tropomiosina (dos cadenas que giran una alrededor de la otra) y de troponina (constituidas por tres subunidades). El panel inferior muestra el filamento delgado montado, que consta de actina F, tropomiosina y las tres subunidades de troponina (TpC, TpI y TpT).

miosina (fig. 49-4). La LMM no muestra actividad de ATPasa, y no se une a la actina F.

La **meromiosina pesada** (HMM; masa molecular de alrededor de 340 kDa) es una proteína soluble que tiene tanto una porción fibrosa como una porción globular (fig. 49-4). Muestra actividad de **ATPasa** y se une a la actina F. La digestión de la HMM con **papaína** genera dos subfragmentos, S-1 y S-2. El fragmento S-2 es de carácter fibroso, carece de actividad de ATPasa y no se une a la actina F.

El **S-1** (masa molecular de aproximadamente 115 kDa) muestra actividad de ATPasa, se une a cadenas L, y en ausencia de ATP se unirá a actina y la decorará con "puntas de flecha" (fig. 49-5). Tanto S-1 como HMM muestran actividad de **ATPasa**, que se acelera 100 a 200 veces al formar complejos con actina F. La actina F aumenta mucho el índice al cual la ATPasa de miosina libera sus productos, ADP y P_i (véase más adelante). De esta manera, aunque la **actina F** no afecta el paso de hidrólisis en sí, su capacidad para **promover la liberación** de los productos sintetizados por la actividad de ATPasa acelera mucho el índice general de catálisis.

LOS CAMBIOS EN LA CONFORMACIÓN DE LA CABEZA DE MIOSINA IMPULSAN LA CONTRACCIÓN MUSCULAR

¿De qué modo la hidrólisis del ATP puede producir movimiento macroscópico? La contracción muscular consta en esencia de **la fijación y el desprendimiento** cíclicos de la cabeza S-1 de miosina a los filamentos de actina F. Este proceso también puede denominarse la formación y rotura de puentes transversales. La fijación de actina a la miosina va seguida por **cambios conformacionales** que tienen particular importancia en la cabeza S-1, y dependen de cuál nucleótido está presente (ADP o ATP). Tales cambios dan por resultado el **golpe de potencia**, que impulsa el movimiento de filamentos de actina más allá de los filamentos de miosina. La energía para el golpe de potencia finalmente es proporcionada por el **ATP**, que se hidroliza hacia ADP y P_i. Sin embargo, el golpe de potencia en sí ocurre como resultado de **cambios conformacionales** en la cabeza de miosina cuando el **ADP** la abandona.

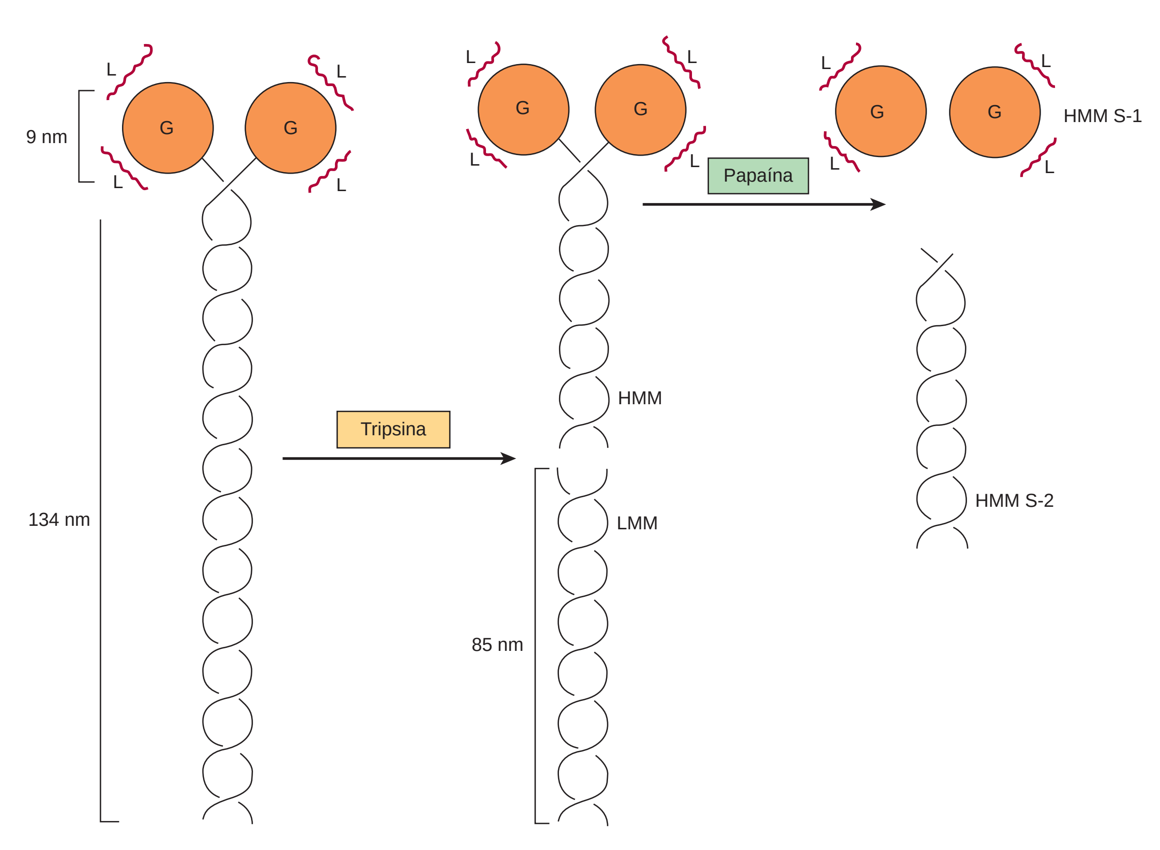


FIGURA 49-4 Diagrama de una molécula de miosina que muestra las dos hélices α entremezcladas (porción fibrosa), la región globular de la cabeza (G), las cadenas ligeras (L), y los efectos de la división proteolítica por tripsina y papaína. La región globular (cabeza de miosina) contiene un sitio de unión a actina y un sitio de unión a cadena L, y se fija también al resto de la molécula de miosina.

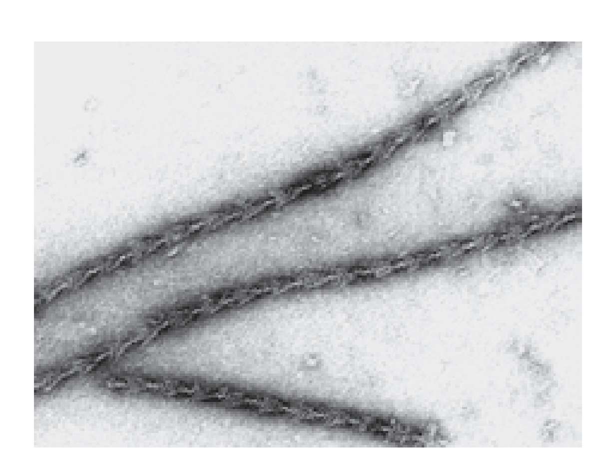


FIGURA 49-5 La decoración de filamentos de actina con los fragmentos S-1 de miosina para formar "puntas de flecha". (Cortesía de JA Spudich.)

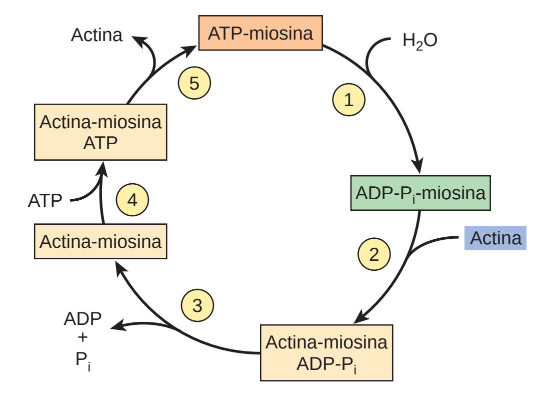


FIGURA 49-6 La hidrólisis del ATP impulsa la asociación y disociación cíclicas de la actina y miosina en cinco reacciones descritas en el texto. (Modificada de Stryer L: *Biochemistry*, 2nd ed. Freeman, 1981. Copyright © 1981 por W. H. Freeman and Company.)

Los principales eventos bioquímicos que ocurren durante un ciclo de contracción y relajación musculares pueden representarse en los cinco pasos que se muestran en la figura 49-6, y son como sigue:

1. En la **fase de relajación** de la contracción muscular, la cabeza de miosina S-1 hidroliza ATP hacia ADP y P_i, pero estos productos permanecen unidos. El complejo $ADP-P_i$-miosina resultante se ha energizado y se encuentra en una conformación denominada de alta energía.
2. Cuando la **contracción** del músculo es estimulada (por medio de fenómenos que comprenden Ca^{2+}, troponina, tropomiosina y actina, que se describen más adelante), la actina se hace accesible, y la cabeza S-1 de la miosina la encuentra, se une a ella, y forma el complejo de actina-miosina-$ADP-P_i$ indicado.

3. La formación de este complejo **promueve la liberación de P_i**, lo que inicia el golpe de poder. Esto va seguido por liberación de ADP, y se acompaña de un cambio conformacional grande en la cabeza de miosina en relación con su cola (fig. 49-7), que tira de la actina alrededor de 10 nm hacia el centro del sarcómero. Éste es el **golpe de potencia**. La miosina ahora se encuentra en un estado llamado de baja energía, indicado como actina-miosina.
4. Otra molécula de ATP se une a la cabeza S-1, y forma un complejo de actina-miosina-ATP.
5. La miosina-ATP tiene baja afinidad por la actina y, **así**, **se libera la actina**. Este último paso es el componente clave de la relajación y depende de la unión del ATP al complejo de actina-miosina.

A continuación comienza **otro ciclo** con la hidrólisis de ATP (paso 1 de la fig. 49-6), lo que vuelve a constituir la conformación de alta energía.

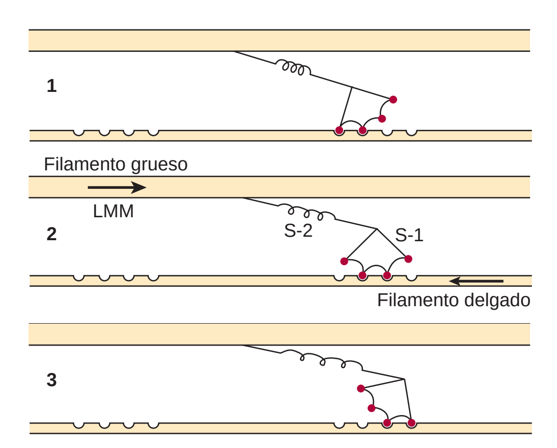


FIGURA 49-7 Representación de los puentes transversales activos entre filamentos delgados y gruesos. Este diagrama fue adaptado por AF Huxley a partir de HE Huxley: The mechanism of muscular contraction. Science 1969;164:1356. Este último propuso que la fuerza involucrada en la contracción muscular se origina en una tendencia a que la cabeza de miosina (S-1) rote respecto al filamento delgado y se transmita hacia el filamento grueso por la porción S-2 de la molécula de miosina que actúa como un enlace inextensible. Puntos flexibles en cada extremo de S-2 permiten que S-1 rote, y que haya variaciones de la separación entre los filamentos. La presente figura se basa en la propuesta de HE Huxley, pero también incorpora elementos elásticos (las vueltas en la porción S-2) y elementos de acortamiento por pasos (descritos aquí como cuatro sitios de interacción entre la porción S-1 y el filamento delgado). (Véase Huxley AF, Simmons RM: Proposed mechanism of force generation in striated muscle. Nature [Lond] 1971;233:533.) Las fuerzas de unión de los sitios fijos son más altas en la posición 2 que en la 1, y más altas en la posición 3 que en la 2. La cabeza de miosina puede desprenderse de la posición 3 con la utilización de una molécula de ATP; éste es el proceso predominante durante el acortamiento. Se observa que la cabeza de miosina varía en su posición desde alrededor de 90° hasta aproximadamente 45°, como se indica en el texto. (S-1, cabeza de miosina; S-2, porción de la molécula de miosina; LMM, meromiosina ligera) (véase el pie de figura de la fig. 49-4.) (Reproducida de Huxley AF: Muscular contraction. J Physiol 1974;243:1. Con la amable autorización del autor y de *Journal of Physiology*.)

De esta manera, la hidrólisis del ATP se usa para impulsar el ciclo; el golpe de potencia real es el cambio conformacional en la cabeza S-1 que ocurre en el momento de liberación de ADP. Las **regiones bisagra** de la miosina (a las cuales se hace referencia como puntos flexibles en cada extremo de S-2 en la leyenda de la fig. 49-7) permiten el gran rango de movimiento de S-1, y que S-1 encuentre filamentos de actina.

Si las **concentraciones intracelulares de ATP disminuyen** (p. ej., después de la muerte), no hay ATP disponible para unirse a la cabeza S-1 (paso 4, véase antes), la **actina no se disocia**, y no ocurre relajación (paso 5). Ésta es la explicación del ***rigor mortis***, la rigidez del cuerpo que ocurre después de la muerte.

Los cálculos han indicado que la **eficiencia** de la contracción es de alrededor de 50%; la del motor de combustión interna es de menos de 20%.

La tropomiosina y el complejo de troponina presentes en filamentos delgados desempeñan funciones clave en el músculo estriado

En el músculo estriado hay otras dos proteínas que son menores en cuanto a su masa, pero importantes en términos de su función. La **tropomiosina** es una molécula fibrosa que consta de dos cadenas, alfa y beta, que se fijan a la actina F en el surco entre sus filamentos (fig. 49-3). La tropomiosina está presente en todas las estructuras musculares y parecidas a músculo. El **complejo de troponina** es singular para el músculo estriado, y consta de tres polipéptidos. La **troponina T** (TpT) se une a la tropomiosina, así como a los otros dos componentes de la troponina. La **troponina I** (TpI) inhibe la interacción entre actina F y miosina, y se une también a los otros componentes de la troponina. La **troponina C** (TpC) es un polipéptido de unión a calcio, análogo desde los puntos de vista estructural y funcional a la **calmodulina**, una importante proteína de unión a calcio ampliamente distribuida en la naturaleza. Cuatro moléculas de ion de calcio se unen por cada molécula de troponina C o calmodulina, y ambas moléculas tienen una masa molecular de 17 kDa.

El Ca^{2+} es fundamental en la regulación de la contracción muscular

La contracción de músculos de todas las fuentes ocurre mediante el mecanismo general antes descrito. Los músculos de diferentes organismos y de distintas células y tejidos dentro del mismo organismo pueden tener diferentes mecanismos moleculares que se encargan de regular su contracción y relajación. En todos los sistemas, el **Ca^{2+}** es un regulador clave. Hay dos mecanismos generales de **regulación** de la contracción muscular: **basada en actina** y **basada en miosina**. El primero opera en los músculos esquelético y cardiaco, y el segundo en el músculo liso.

La regulación basada en actina ocurre en el músculo estriado

La **regulación basada en actina** del músculo ocurre en los músculos esquelético y cardiaco de vertebrados, ambos estriados. En el mecanismo general antes descrito (fig. 49-6), el único factor en potencia

limitante en el ciclo de la contracción muscular podría ser el ATP. El sistema del músculo esquelético está **inhibido** en reposo; esta inhibición se suprime para activar la contracción. El inhibidor del músculo estriado es el **sistema de troponina**, que está unido a la tropomiosina y la actina F en el filamento delgado (fig. 49-3). En el músculo estriado no hay control de la contracción a menos que los sistemas de tropomiosina-troponina estén presentes junto con los filamentos de actina y miosina. Como se describió, la **tropomiosina** yace a lo largo del surco de la actina F, y los tres componentes de la **troponina** —TpT, TpI y TpC— están unidos al complejo de actina F-tropomiosina. La TpI evita la unión de la cabeza de miosina a su sitio de fijación a actina F al alterar la conformación de esta última por medio de las moléculas de tropomiosina, o al simplemente girar la tropomiosina hacia una posición que bloquea de manera directa los sitios en la actina F a los cuales se fijan las cabezas de miosina. Uno u otro método evita la activación de la ATPasa de la miosina que está mediada por unión de la cabeza de miosina a actina F. Por tanto, el sistema TpI bloquea el ciclo de contracción en el paso 2 de la figura 49-6. Esto explica el **estado inhibido** del músculo estriado relajado.

El retículo sarcoplásmico regula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} en el músculo esquelético

En el sarcoplasma del músculo en reposo, la concentración de Ca^{2+} es de 10^{-8} a 10^{-7} mol/L. El estado de reposo se logra porque el Ca^{2+} se bombea hacia el retículo sarcoplásmico por medio de la acción de un sistema de transporte activo, llamado el Ca^{2+} ATPasa (fig. 49-8), lo que inicia la relajación. El retículo sarcoplásmico es una red de sacos membranosos finos. Dentro del retículo sarcoplásmico, el Ca^{2+} está unido a una proteína de unión a Ca^{2+} específica designada **calsecuestrina**. El sarcómero está rodeado por una membrana excitable (el sistema de túbulos T) compuesta de canales transversos (T) estrechamente relacionados con el retículo sarcoplásmico.

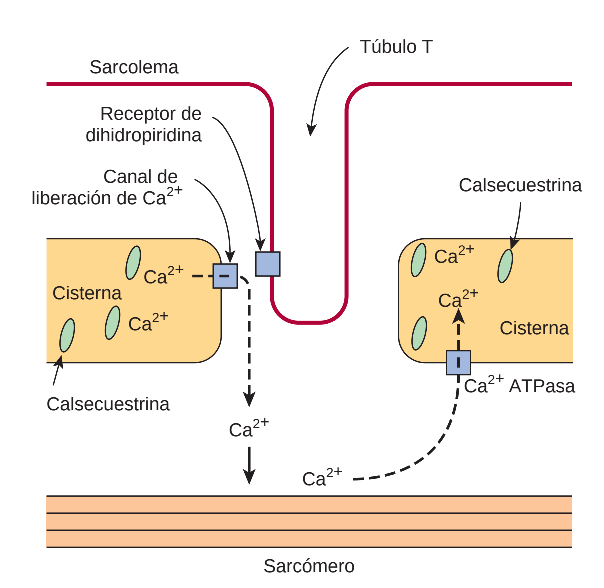


FIGURA 49-8 Diagrama de las relaciones entre sarcolema (membrana plasmática), un túbulo T, y dos cisternas del retículo sarcoplásmico de músculo esquelético (no a escala). El túbulo T se extiende hacia adentro del sarcolema. Una onda de despolarización, iniciada por un impulso nervioso, se transmite desde el sarcolema por el túbulo T. Después se retransmite hacia el canal de liberación de Ca^{2+} (receptor de rianodina), quizá por interacción con el receptor de dihidropiridina (canal de voltaje de Ca^{2+} lento), que se muestran en estrecha proximidad. La liberación de Ca^{2+} desde el canal de liberación de Ca^{2+} hacia el citosol inicia la contracción. Después, la Ca^{2+} ATPasa (bomba de Ca^{2+}) bombea de regreso el Ca^{2+} hacia las cisternas del retículo sarcoplásmico y se almacena ahí, unido en parte a calsecuestrina.

Cuando un **impulso nervioso** excita el sarcolema, la señal se transmite hacia un sistema de túbulos T y se abre un **canal de liberación de Ca^{2+}** en el retículo sarcoplásmico cercano, lo que libera Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico hacia el sarcoplasma. La concentración de Ca^{2+} en el sarcoplasma aumenta rápidamente a 10^{-5} mol/L. El Ca^{2+} ocupa con rapidez los sitios de unión a Ca^{2+} en *TpC* en el filamento delgado. El TpC-4Ca^{2+} interactúa con TpI y TpT para alterar su interacción con la tropomiosina. En consecuencia, la tropomiosina se mueve hacia afuera del camino o altera la conformación de la actina F de modo que la cabeza de miosina-ADP-P_i (fig. 49-6) puede interactuar con la actina F para empezar el ciclo de contracción.

El canal de liberación de Ca^{2+} también se conoce como el **receptor de rianodina** (RYR). Hay dos isoformas de este receptor: RYR1 y RYR2; el primero está presente en el músculo esquelético, y el segundo en el músculo cardiaco y en el cerebro. La **rianodina** es un alcaloide vegetal que se une de manera específica a RYR1 y RYR2, y modula sus actividades. El canal de liberación de Ca^{2+} es un homotetrámero constituido de cuatro subunidades de 565 kDa. Tiene secuencias transmembrana en su carboxilo terminal, y éstas probablemente forman el canal de Ca^{2+}. El resto de la proteína sobresale hacia el citosol, y llena la brecha entre el retículo sarcoplásmico y la membrana tubular transversa. El canal es activado por ligando; el Ca^{2+} y el ATP trabajan de manera sinérgica *in vitro*, aunque no está claro cómo opera *in vivo*. En la figura 49-9 se muestra una posible secuencia de eventos que llevan a la abertura del canal. El canal yace muy cerca del **receptor de dihidropiridina** (DHPR; un canal de Ca^{2+} tipo K, lento, activado por voltaje) del sistema de túbulos transversos (fig. 49-8). Experimentos *in vitro* en los que se emplea un método con cromatografía en columna de afinidad han indicado que un tramo de 37 aminoácidos en el RYR1 interactúa con un asa específica del DHPR.

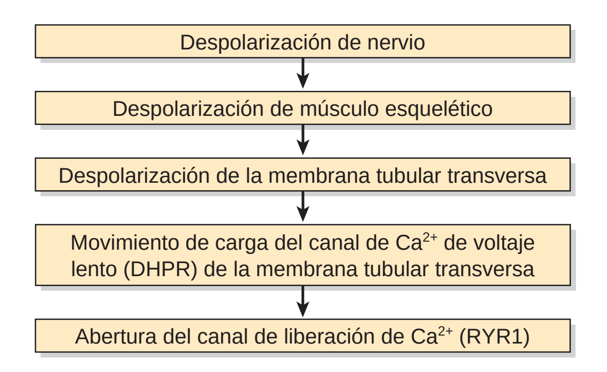


FIGURA 49-9 Posible cadena de eventos que conducen a la abertura del canal de liberación de Ca^{2+}. Como se indica en el texto, se ha mostrado que el canal de voltaje de Ca^{2+} y el canal de liberación de Ca^{2+} interactúan entre sí *in vitro* por medio de regiones específicas en sus cadenas de polipéptidos. (DHPR, receptor de dihidropiridina; RYR1, receptor de rianodina 1.)

La **relajación** ocurre cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L debido a su resecuestro hacia el retículo sarcoplásmico por la Ca^{2+} ATPasa. Así, el TpC-4Ca^{2+} pierde su Ca^{2+}. Por tanto, la **troponina**, por medio de interacción con tropomiosina, **inhibe** la interacción adicional entre la cabeza de miosina y la actina F, y en presencia de ATP la cabeza de miosina se desprende de la actina F.

De este modo, el Ca^{2+} controla la contracción y relajación del músculo esquelético mediante un mecanismo alostérico mediado por TpC, TpI, TpT, tropomiosina y actina F.

Un **decremento** de la concentración de **ATP** en el sarcoplasma (p. ej., por uso excesivo durante el ciclo de contracción-relajación o por formación disminuida, como podría ocurrir en la isquemia) tiene dos efectos importantes: 1) la **Ca^{2+} ATPasa** (bomba de Ca^{2+}) en el retículo sarcoplásmico deja de mantener la concentración baja de Ca^{2+} en el sarcoplasma. De esta manera, se promueve la interacción de las cabezas de miosina con actina F. 2) El **desprendimiento de cabezas de miosina**, dependiente de ATP, desde la actina F, no puede ocurrir, y surge rigidez (contractura). El estado de ***rigor mortis***, después de la muerte, es una extensión de estos eventos.

La contracción muscular es un delicado equilibrio dinámico de la fijación y el desprendimiento de cabezas de miosina a actina F, sujeto a regulación fina por medio del sistema nervioso.

En el cuadro 49-1 se resumen los eventos generales en la contracción y relajación del músculo esquelético.

CUADRO 49-1 Secuencia de eventos en la contracción y relajación del músculo esquelético

Pasos en la contracción
1. Descarga de neurona motora
2. Liberación de transmisor (acetilcolina) en la placa terminal
3. Unión de acetilcolina a receptores de acetilcolina nicotínicos
4. Conductancia del Na^+ y K^+ aumentada en la membrana de la placa terminal
5. Generación del potencial de placa terminal
6. Generación del potencial de acción en fibras musculares
7. Diseminación hacia adentro de despolarización a lo largo de túbulos T
8. Liberación de Ca^{2+} desde cisternas terminales del retículo sarcoplásmico y difusión hacia filamentos gruesos y delgados
9. Unión de Ca^{2+} a troponina C, lo que descubre sitios de unión a miosina, de la actina
10. Formación de enlaces cruzados entre actina y miosina, y deslizamiento de filamentos delgados sobre gruesos, lo que produce acortamiento
Pasos en la relajación
1. Ca^{2+} bombeado de regreso hacia el retículo sarcoplásmico
2. Liberación de Ca^{2+} desde la troponina
3. Cese de la interacción entre la actina y la miosina

Fuente: Reproducido, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2003.

Las mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+} son una causa de hipertermia maligna humana

Algunos pacientes que tienen predisposición genética experimentan una reacción grave, designada **hipertermia maligna**, cuando quedan expuestos a ciertos anestésicos (p. ej., halotano) y relajantes del músculo esquelético despolarizantes (p. ej., succinilcolina). La reacción consta principalmente de rigidez de los músculos esqueléticos, hipermetabolismo y fiebre alta. Una **concentración citosólica alta de Ca^{2+}** en el músculo esquelético es un factor importante en su causa. A menos que la hipertermia maligna se reconozca y trate de inmediato, los pacientes pueden morir de manera aguda por fibrilación ventricular, o sobrevivir para sucumbir después por otras complicaciones serias. El tratamiento apropiado consta de suspender el anestésico y administrar el fármaco **dantroleno** por vía intravenosa. El dantroleno es un relajante del músculo esquelético que actúa para inhibir la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico hacia el citosol, lo que evita el aumento del Ca^{2+} citosólico que se encuentra en la hipertermia maligna.

La hipertermia maligna también ocurre en **cerdos**. Los animales homocigotos para hipertermia maligna susceptibles muestran respuesta al estrés con una reacción mortal **(síndrome de estrés porcino)** similar a la que se observa en los seres humanos. Si la reacción ocurre antes de la matanza, afecta de manera adversa la calidad de la carne, lo que da por resultado un producto inferior. Ambos eventos puedan dar por resultado considerables pérdidas económicas para la industria porcina.

Una concentración alta de Ca^{2+} citosólico en el músculo en sujetos con hipertermia maligna sugirió que la enfermedad podría producirse por anormalidades en la Ca^{2+} ATPasa o del canal de liberación de **Ca^{2+}**. No se detectaron anormalidades en la primera, pero la secuenciación de cDNA para la segunda proteína proporcionó información, particularmente en cerdos. Todos los cDNA de **cerdos** con hipertermia maligna examinados hasta ahora, han mostrado una sustitución de C1843 por T, lo que da por resultado la sustitución de Arg^{615} por Cis en el canal de liberación de Ca^{2+}. La mutación afecta la función del canal por cuanto se abre con mayor facilidad y permanece abierto durante más tiempo; el resultado neto es liberación masiva de Ca^{2+} hacia el citosol, lo que finalmente causa contracción muscular sostenida.

El cuadro es más complejo en **seres humanos**, puesto que la hipertermia maligna muestra **heterogeneidad genética**. Los miembros de varias familias que sufren hipertermia maligna no han mostrado enlace genético con el gen *RYR1*. Se ha encontrado que algunos seres humanos susceptibles a hipertermia maligna muestran la misma mutación que se encuentra en cerdos, y otros tienen diversas mutaciones puntuales en diferentes *loci* del gen *RYR1*. Se ha hallado que ciertas familias con hipertensión maligna tienen mutaciones que afectan el **DHPR**. En la figura 49-10 se resume la probable cadena de eventos en la hipertermia maligna. La principal promesa de estos datos es que, una vez que se detecten mutaciones adicionales, será posible la **detección**, usando sondas de DNA idóneas, de individuos en riesgo de presentar hipertermia maligna durante anestesia. Las pruebas de detección actuales (p. ej., la prueba de cafeína-halotano *in vitro*) son relativamente poco fiables. Entonces podrían administrarse a los afectados **anestésicos alternativos**, que no pondrían en peligro su vida. También debe ser posible, si se desea,

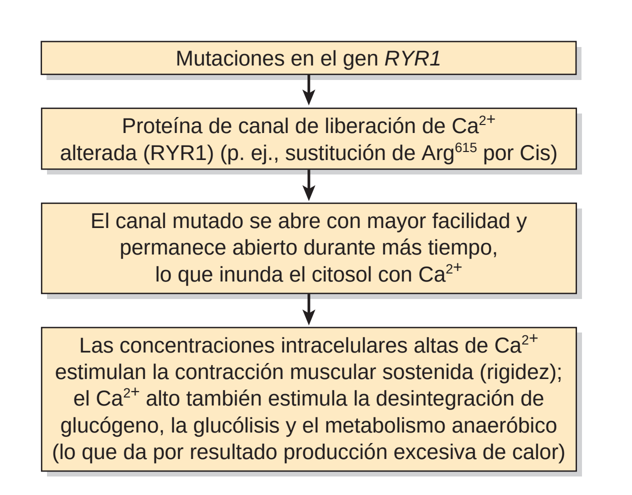


FIGURA 49-10 Esquema simplificado de la causa de la hipertermia maligna (OMIM 145600). Se han detectado muchas mutaciones puntuales diferentes en el gen *RYR1*, algunas de las cuales se relacionan con miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000). Se estima que al menos 50% de las familias con miembros que tienen hipertermia maligna está enlazado al gen *RYR1*. Asimismo, se han detectado algunos individuos con mutaciones en el gen que codifica para DHPR; posiblemente también se encontrarán mutaciones en otros genes que codifican para proteínas involucradas en ciertos aspectos del metabolismo muscular.

eliminar la hipertermia maligna de poblaciones de cerdos usando prácticas de cría idóneas.

Otra enfermedad debida a mutaciones en el gen *RYR1* es la **miopatía congénita de corpúsculos centrales**. Ésta es una miopatía rara que se presenta durante la lactancia, con hipotonía y debilidad de músculos proximales. La microscopia electrónica revela falta de mitocondrias en el centro de muchas fibras musculares tipo I (véase más adelante).

Los datos morfológicos parecen depender de daño de las mitocondrias inducido por concentraciones intracelulares altas de Ca^{2+} consecutivas a funcionamiento anormal de *RYR1*.

LAS MUTACIONES EN EL GEN QUE CODIFICA PARA DISTROFINA CAUSAN DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

Varias **proteínas adicionales** desempeñan diversas funciones en la estructura y función del músculo. Incluyen titina (la proteína de mayor tamaño conocida), nebulina, α-actinina, desmina, distrofina y calcineurina. En el cuadro 49-2 se resumen algunas propiedades de estas proteínas.

La **distrofina** despierta especial interés. Como se comenta en el caso número 9 del capítulo 54, se ha mostrado que las mutaciones en el gen que codifica para esta proteína son la causa de la **distrofia muscular de Duchenne**, y de la más leve **distrofia muscular de Becker**. También quedan implicadas en algunos casos de **miocardiopatía dilatada** (véase más adelante). La distrofina forma parte de un complejo grande de proteínas que se fijan al plasmalema o que interactúan con el mismo (fig. 49-11). La distrofina enlaza el citoesqueleto de la actina a la ECM, y parece ser necesaria para el montaje de la unión sináptica. Se cree que el deterioro de estos procesos por formación de distrofina defectuosa es crucial en la causa de la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones en los genes que codifican para algunos de los componentes del **complejo de sarcoglucano** (fig. 49-11) son la causa de **distrofia muscular de la cintura escapulohumeral o pélvica**, y de algunas **otras formas congénitas** de distrofia muscular.

CUADRO 49-2 Algunas otras proteínas importantes del músculo

Proteína	Ubicación	Comentario o función
Titina	Abarca desde la línea Z hasta la línea M	La proteína de mayor tamaño en el organismo. Participa en la relajación del músculo.
Nebulina	Desde la línea Z a lo largo de filamentos de actina	Quizá regule el montaje y la longitud de filamentos de actina.
α-Actinina	Fija la actina a líneas Z	Estabiliza filamentos de actina.
Desmina	Yace a lo largo de filamentos de actina	Se fija a la membrana plasmática (plasmalema).
Distrofina	Fija al plasmalema	Deficiente en la distrofia muscular de Duchenne. Las mutaciones de este gen también pueden causar miocardiopatía dilatada.
Calcineurina	Citosol	Una proteína fosfatasa regulada por calmodulina. Puede tener importancia en la hipertrofia cardiaca y en la regulación de cantidades de músculos de contracción lenta y rápida.
Proteína C de unión a miosina	Dispuesta de manera transversal en las bandas A del sarcómero	Se une a la miosina y titina. Participa en el mantenimiento de la integridad estructural del sarcómero.

Se ha encontrado que las mutaciones en genes que codifican para **varias glucosiltransferasas** involucradas en la síntesis de las cadenas de azúcar del **α-distroglucano** son la causa de ciertos tipos de **distrofia muscular congénita** (cap. 47).

EL MÚSCULO CARDIACO SE PARECE AL MÚSCULO ESQUELÉTICO EN MUCHOS ASPECTOS

El cuadro general de la contracción muscular en el corazón semeja el de la contracción del músculo esquelético. El músculo cardiaco, al igual que el esquelético, es **estriado**, y usa el sistema de actina-miosina-tropomiosina-troponina antes descrito. Al contrario del músculo esquelético, el músculo cardiaco muestra **ritmicidad intrínseca**, y miocitos individuales se comunican entre sí debido a su naturaleza sincitial. El **sistema tubular T** está más desarrollado en el músculo cardiaco, mientras que el **retículo sarcoplásmico** es menos extenso, y por consiguiente el aporte intracelular de Ca^{2+} para la contracción es menor. Así, la contracción del músculo cardiaco depende del **Ca^{2+} extracelular**; si el músculo cardiaco aislado queda privado de Ca^{2+}, deja de latir en el transcurso de aproximadamente

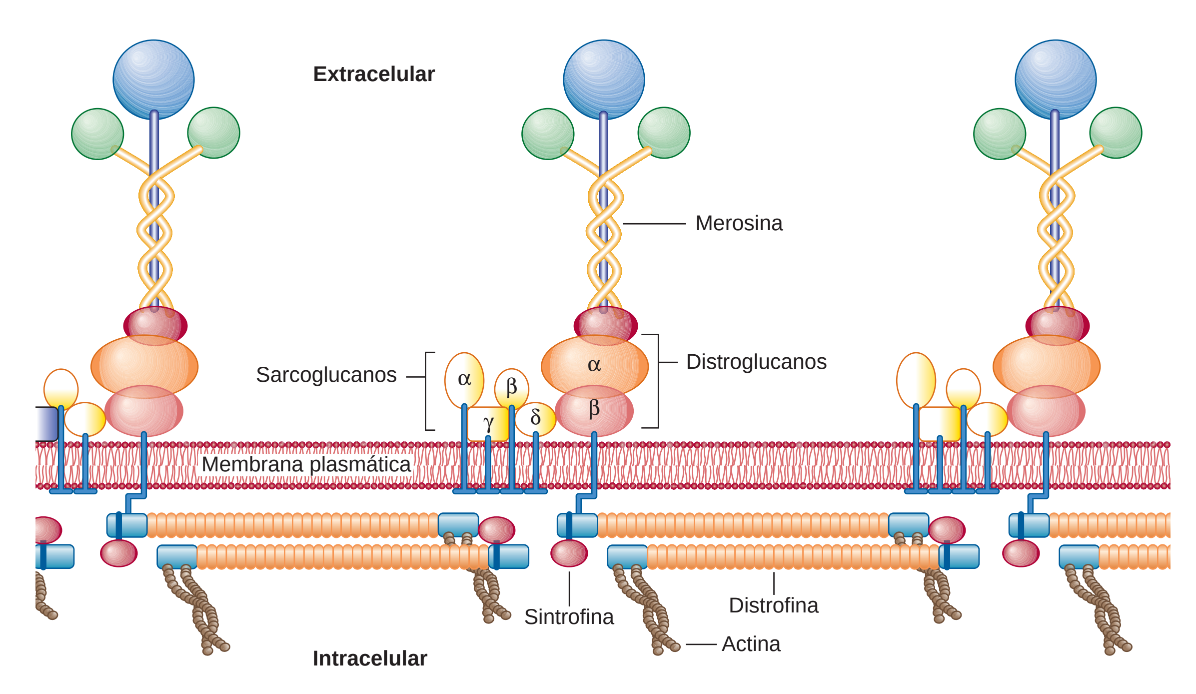


FIGURA 49-11 Organización de la distrofina y otras proteínas en relación con la membrana plasmática de células musculares. La distrofina forma parte de un complejo oligomérico grande asociado con varios otros complejos proteínicos. El complejo de distroglucano consta de un α-distroglucano, que se asocia con la proteína de la lámina basal merosina (también llamada laminina-2) y α-distroglucano, que une α-distroglucano y distrofina. La sintrofina se une al carboxilo terminal de la distrofina. El complejo sarcoglucano consta de cuatro proteínas transmembrana: α-, β-, β- y δ-sarcoglucano. No están claras la función del complejo de sarcoglucano ni la naturaleza de las interacciones dentro del complejo y entre este último y los otros complejos. El complejo de sarcoglucano sólo se forma en el músculo estriado, y sus subunidades se asocian de preferencia entre sí, lo que sugiere que el complejo quizá funcione como una unidad única. Las mutaciones en el gen que codifica para distrofina causan distrofia muscular de Duchenne y de Becker. Se ha mostrado que las mutaciones en los genes que codifican para los diversos sarcoglucanos son la causa de distrofias de la cintura escapular o pélvica (p. ej., OMIM 604286), y las mutaciones en genes que codifican para otras proteínas musculares causan otros tipos de distrofia muscular. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas glucosiltransferasas involucradas en las síntesis de las cadenas de glucano del α-distroglucano son la causa de ciertas distrofias musculares congénitas (cap. 47). (Reproducida, con autorización, de Duggan DJ *et al.*: Mutations in the sarcoglycan genes in patients with myopathy. N Engl J Med 1997;336:618. Copyright © 1997 Massachusetts Medical Society. Todos los derechos reservados.)

1 min, mientras que el músculo esquelético puede seguir contrayéndose durante un periodo más prolongado sin una fuente extracelular de Ca^{2+}. El **AMP cíclico** desempeña una función más notoria en el músculo cardiaco que en el esquelético. Modula las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} por medio de la activación de proteína cinasas; estas enzimas fosforilan diversas proteínas de transporte en el sarcolema y el retículo sarcoplásmico, y en el complejo regulador de troponina-tropomiosina, lo que afecta las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} o las respuestas a las mismas. Hay una correlación gruesa entre la fosforilación de TpI y la contracción aumentada del músculo cardiaco inducida por catecolaminas. Esto puede explicar los **efectos inotrópicos** (contractilidad aumentada) de los compuestos β-adrenérgicos sobre el corazón. En el cuadro 49-3 se resumen algunas diferencias entre los músculos esquelético, cardiaco y liso.

El Ca^{2+} entra a los miocitos mediante canales de Ca^{2+}, y los abandona por medio del intercambiador de Na^+-Ca^{2+} y la Ca^{2+} ATPasa

Como se mencionó, el **Ca^{2+} extracelular** desempeña una función importante en la contracción del músculo cardiaco, no así en la del esquelético. Esto significa que el Ca^{2+} entra a los miocitos y sale de los mismos de una manera regulada. Se considerarán brevemente tres proteínas transmembrana que participan en este proceso.

Canales de Ca^{2+}

El Ca^{2+} entra en los miocitos por medio de estos canales, que permiten la entrada sólo de iones de Ca^{2+}. La principal puerta de entrada es el tipo L (corriente de larga duración, conductancia grande) o canal de **Ca^{2+} lento**, que es activado por voltaje, se abre durante despolarización inducida por propagación del potencial de acción cardiaco, y se cierra cuando el potencial de acción declina. Estos canales son equivalentes a los receptores de dihidropiridina del músculo esquelético (fig. 49-8). Los canales de Ca^{2+} lentos están **regulados** por proteína cinasas dependientes de cAMP (estimuladoras) y cGMP-proteína cinasas (inhibidoras), y quedan bloqueados por los llamados bloqueadores de los canales de calcio (p. ej., verapamilo). Los canales de Ca^{2+} **rápidos** (o T, transitorios) también están presentes en el plasmalema, aunque en números mucho menores; probablemente contribuyen a la fase temprana del incremento del Ca^{2+} mioplásmico.

El aumento resultante del Ca^{2+} en el mioplasma actúa sobre el canal de liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico para abrirlo.

CUADRO 49-3 Algunas diferencias entre músculo esquelético, cardiaco y liso

Músculo esquelético	Músculo cardiaco	Músculo liso
1. Estriado.	1. Estriado.	1. No estriado.
2. No tiene sincitio.	2. Sincitial.	2. Sincitial.
3. Túbulos T pequeños.	3. Túbulos T grandes.	3. Por lo general túbulos T rudimentarios.
4. Retículo sarcoplásmico bien desarrollado y la bomba de Ca^{2+} actúa con rapidez.	4. El retículo sarcoplásmico está presente y la bomba de Ca^{2+} actúa con relativa rapidez.	4. Retículo sarcoplásmico a menudo rudimentario y la bomba de Ca^{2+} actúa con lentitud.
5. El plasmalema carece de muchos receptores de hormona.	5. El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).	5. El plasmalema contiene diversos receptores (p. ej., α- y β-adrenérgicos).
6. El impulso nervioso inicia la contracción.	6. Tiene ritmicidad intrínseca.	6. Contracción iniciada por impulsos nerviosos, hormonas, etc.
7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular no es importante para la contracción.	7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción.	7. El Ca^{2+} en el líquido extracelular es importante para la contracción.
8. Sistema de troponina presente.	8. Sistema de troponina presente.	8. Carece de sistema de troponina; usa la cabeza de miosina reguladora.
9. No participa la caldesmona.	9. La caldesmona no participa.	9. La caldesmona es una importante proteína reguladora.
10. Paso de los puentes transversales por ciclos muy rápidos.	10. Paso de los puentes transversales por ciclos relativamente rápidos.	10. El paso de los puentes transversales por ciclos lentos permite contracción lenta y prolongada, y menos utilización de ATP.

Esto se llama **liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+}** (CICR). Se estima que alrededor de 10% del Ca^{2+} involucrado en la contracción entra en el citosol desde el líquido extracelular, y 90% desde el retículo sarcoplásmico. Empero, el primer 10% es importante, puesto que el índice de aumento de Ca^{2+} en el mioplasma es importante, y la entrada por medio de los canales de Ca^{2+} contribuye de manera apreciable a esto.

Intercambiador de Ca^{2+}-Na^+

Se trata de la principal ruta de **salida** de Ca^{2+} desde los miocitos. En miocitos en reposo, ayuda a mantener una concentración baja de Ca^{2+} intracelular libre al intercambiar un Ca^{2+} por tres Na^+. La energía para el movimiento torrente arriba de Ca^{2+} hacia afuera de la célula proviene del movimiento torrente abajo de Na^+ hacia la célula desde el plasma. Este intercambio contribuye a la relajación, pero puede correr en la dirección inversa durante la excitación. Debido al intercambiador de Ca^{2+}- Na^+, cualquier cosa que cause aumento del Na^+ intracelular (Na^+_i) ocasionará de manera secundaria aumento del Ca^{2+}_i, lo que origina contracción más enérgica. Esto se denomina **efecto inotrópico positivo**. Un ejemplo es cuando el fármaco **digital** se usa para tratar insuficiencia cardiaca. La digital inhibe la Na^+- K^+ ATPasa sarcolémica, lo que disminuye la salida de Na^+ y, así, aumenta el Na^+_i. Esto a su vez causa incremento del Ca^{2+}, por medio del intercambiador de Ca^{2+}-Na^+. El Ca^{2+}_i aumentado suscita incremento de las fuerzas de la contracción cardiaca (fig. 49-12), que resulta beneficioso en personas con insuficiencia cardiaca.

Ca^{2+} ATPasa

Esta bomba de Ca^{2+}, situada en el sarcolema, también contribuye a la salida de **Ca^{2+}**, pero se cree que tiene un papel relativamente menor en comparación con el intercambiador de Ca^{2+}-Na^+.

Cabe hacer notar que hay diversos **canales de ion** (cap. 40) en casi todas las células, para Na^+, K^+, Ca^{2+}, etc. Muchos de ellos se han clonado durante los últimos años, y se ha determinado su disposición en sus membranas respectivas (número de veces que cada uno cruza su membrana, ubicación del sitio de transporte de ion real en la proteína, etc.). Pueden clasificarse como se indica en el cuadro 49-4. El músculo cardiaco tiene alto contenido de canales de ion, y estos últimos también tienen importancia en el músculo esquelético. Se ha mostrado que las mutaciones de los genes que codifican para canales de ion causan varias enfermedades relativamente raras que afectan el músculo. Estas y otras enfermedades debidas a mutaciones de canales de ion se han llamado **canalopatías**; algunas se listan en el cuadro 49-5.

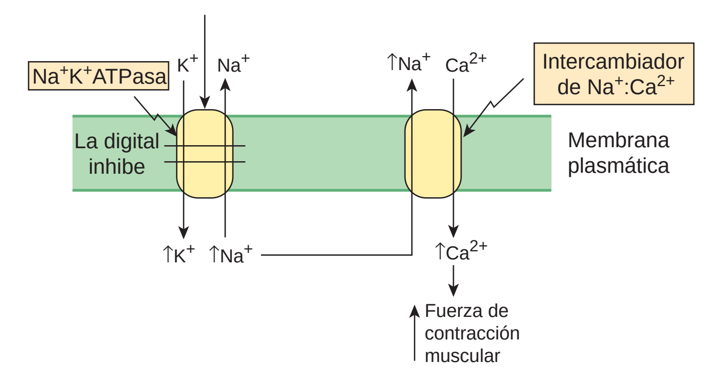


FIGURA 49-12 Esquema de la manera en que el fármaco digital (usado en el tratamiento de ciertos casos de insuficiencia cardiaca) aumenta la contracción cardiaca. La digital inhibe la Na^+K^+ATPasa (cap. 40). Esto da por resultado bombeo de menos Na^+ hacia afuera del miocito cardiaco, y lleva a un incremento de la concentración intracelular de Na^+. A su vez, esto estimula al intercambiador de Na^+-Ca^{2+}, de modo que más Na^+ se intercambia hacia afuera, y más Ca^{2+} entra al miocito. La concentración intracelular aumentada resultante de Ca^{2+} incrementa la fuerza de la contracción muscular.

CUADRO 49-4 Principales tipos de canales de ion encontrados en las células

Tipo	Comentario
Activado por ligando externo	Se abre en respuesta a una molécula extracelular específica, p. ej., acetilcolina.
Activado por ligando interno	Se abre o cierra en respuesta a una molécula intracelular específica, p. ej., un nucleótido cíclico.
Activado por voltaje	Se abre en respuesta a un cambio del potencial de membrana, p. ej., canales de Na^+, K^+ y Ca^{2+} en el corazón.
Activado mecánicamente	Se abre en respuesta al cambio de la presión mecánica.

CUADRO 49-5 Algunos trastornos (canalopatías) debidos a mutaciones en genes que codifican para polipéptidos constituyentes de canales de ion

Trastorno[1]	Canal de ion y principales órganos afectados
Miopatía congénita de corpúsculos centrales (OMIM 117000)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1) Músculo esquelético
Fibrosis quística (OMIM 219700)	CFTR (canal de Cl^-) Pulmones, páncreas
Parálisis periódica hiperpotasiémica (OMIM 170500)	Canal de sodio Músculo esquelético
Parálisis periódica hipopotasiémica (OMIM 170400)	Canal de Ca^{2+} de voltaje lento (DHPR) Músculo esquelético
Hipertermia maligna (OMIM 145600)	Canal de liberación de Ca^{2+} (RYR1) Músculo esquelético
Miotonía congénita (OMIM 160800)	Canal de cloruro Músculo esquelético

Fuente: Datos en parte de Ackerman NJ, Clapham DE: Ion channels—basic science and clinical disease. N Engl J Med 1997;336:1575.

[1] Otras canalopatías incluyen el síndrome de QT largo (OMIM 192500); seudoaldosteronismo (síndrome de Liddle, OMIM 177200); hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la lactancia (OMIM 601820); nefrolitiasis tipo II recesiva ligada a X hereditaria, de la lactancia (síndrome de Dent, OMIM 300009), y miotonía generalizada, recesiva (enfermedad de Becker, OMIM 255700). El término "miotonía" signiﬁca cualquier enfermedad en la cual los músculos no se relajan tras la contracción.

Las miocardiopatías hereditarias se deben a trastornos del metabolismo de energía cardiaco o a proteínas miocárdicas anormales

Una **miocardiopatía hereditaria** es cualquier anormalidad estructural o funcional del miocardio ventricular debida a una causa hereditaria. Hay tipos de miocardiopatía no hereditarios, pero no se describirán aquí. Las causas de las miocardiopatías hereditarias caen dentro de dos clases amplias (cuadro 49-6): 1) trastornos del **metabolismo de energía cardiaco**, que reflejan principalmente mutaciones en genes que codifican para enzimas o proteínas involucradas en la oxidación de ácidos grasos (una importante fuente de energía para el miocardio) y la fosforilación oxidativa, y 2) mutaciones en genes que codifican para proteínas que participan en la **contracción miocárdica** o que la **afectan**, como la miosina, tropomiosina, las troponinas, y la proteína C de unión a miosina cardiaca. Las mutaciones en los genes que codifican para estas últimas proteínas causan miocardiopatía hipertrófica familiar, que se comentará a continuación.

CUADRO 49-6 Causas bioquímicas de miocardiopatías hereditarias[1]

Causa	Proteínas o proceso afectados
Errores congénitos de la oxidación de ácidos grasos	Entrada de carnitina hacia las células y mitocondrias Ciertas enzimas de la oxidación de ácidos grasos
Trastornos de la fosforilación oxidativa mitocondrial	Proteínas codificadas por genes mitocondriales Proteínas codificadas por genes nucleares
Anormalidades de proteínas contráctiles y estructurales miocárdicas	Cadenas pesadas de β-miosina, troponina, tropomiosina, distrofina

Fuente: Basado en Kelly DP, Strauss AW: Inherited cardiomyopathies. N Engl J Med 1994;330:913.

[1] Las mutaciones (p. ej., mutaciones puntuales, o en algunos casos deleciones) en los genes (nucleares o mitocondriales) que codiﬁcan para diversas proteínas, enzimas, o moléculas de tRNA, son las causas fundamentales de las miocardiopatías hereditarias. Algunas enfermedades son leves, mientras que otras son graves y pueden formar parte de un síndrome que afecta a otros tejidos.

Las mutaciones en el gen que codifica para la cadena pesada de la β-miosina cardiaca son una causa de miocardiopatía hipertrófica familiar

La miocardiopatía hipertrófica familiar es una de las enfermedades cardiacas hereditarias más frecuentes. Los pacientes muestran hipertrofia —a menudo masiva— de uno o ambos ventrículos, que empieza en etapas tempranas de la vida, y no se relaciona con alguna causa extrínseca, como hipertensión. La mayor parte de los casos se transmite de una manera autosómica dominante; el resto es esporádico. Hasta hace poco, su causa era oscura. Con todo, esta situación cambió cuando los estudios de una familia afectada mostraron que la enfermedad dependía de una **mutación sin sentido** (esto es, sustitución de un aminoácido por otro) en el gen que codifica para **cadena pesada de β-miosina**. Estudios subsiguientes han mostrado varias mutaciones sin sentido en este gen, todas las cuales codifican para residuos muy conservados. Algunos individuos han mostrado otras mutaciones, como la formación de un gen híbrido que codifica para cadena pesada de α/β-miosina. Los pacientes con miocardiopatía hipertrófica familiar pueden mostrar gran variación del cuadro clínico. Esto refleja en parte la **heterogeneidad genética**; esto es, la mutación en varios **otros genes** (p. ej., los que codifican para actina cardiaca, tropomiosina, troponinas cardiacas I y T, cadenas ligeras de miosina esenciales y reguladoras, proteína C de unión a miosina cardiaca, titina, y tRNA-glicina y tRNA-isoleucina mitocondriales) también puede causar miocardiopatía hipertrófica familiar. Además, las mutaciones en diferentes sitios en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina pueden afectar en mayor

o menor grado la función de la proteína. Las mutaciones sin sentido están agrupadas en las regiones de la cabeza y de cabeza-varilla de la cadena pesada de miosina. Una hipótesis es que los polipéptidos mutantes ("polipéptidos veneno") causan formación de miofibrillas anormales, lo que finalmente da por resultado hipertrofia compensadora. Algunas mutaciones alteran la **carga** del aminoácido (p. ej., sustitución de glutamina por arginina), lo que quizá afecta de manera más notoria la **conformación** de la proteína y, así, altera su función. En pacientes que tienen estas mutaciones la esperanza de vida es significativamente más breve que en aquellos en quienes la mutación no produjo alteración de la carga. De este modo, quizá resulte que la definición de las mutaciones precisas involucradas en la génesis de FHC tenga utilidad pronóstica importante; puede lograrse mediante el uso apropiado de la reacción en cadena de polimerasa en DNA genómico obtenido a partir de una muestra de linfocitos sanguíneos. La figura 49-13 es un esquema simplificado de los eventos que causan miocardiopatía hipertrófica familiar.

Otro tipo de miocardiopatía se denomina **miocardiopatía dilatada**. Las mutaciones en los genes que codifican para distrofina, proteína LIM muscular (así llamada porque se encontró que contiene un dominio con alto contenido de cisteína originalmente detectado en tres proteínas: Lin-II, Isl-1 y Mec-3), la proteína de unión a elemento de respuesta cíclica (CREB), desmina y lamina, han quedado implicadas en la causa de esta enfermedad. Las primeras dos proteínas ayudan a organizar el aparato contráctil de las células de músculo cardiaco, y la CREB participa en la regulación de varios genes de estas células. La investigación actual no sólo está elucidando las causas moleculares de las miocardiopatías, sino que también está revelando mutaciones que causan **trastornos del desarrollo cardiaco** (p. ej., defecto de tabique) y **arritmias** (p. ej., debidas a mutación que afecta canales de ion).

El Ca^{2+} también regula la contracción del músculo liso

Si bien todos los músculos contienen actina, miosina y tropomiosina, sólo los músculos **estriados** de vertebrados contienen el **sistema de troponina**. De esta manera, los mecanismos que regulan la contracción deben diferir en diversos sistemas contráctiles.

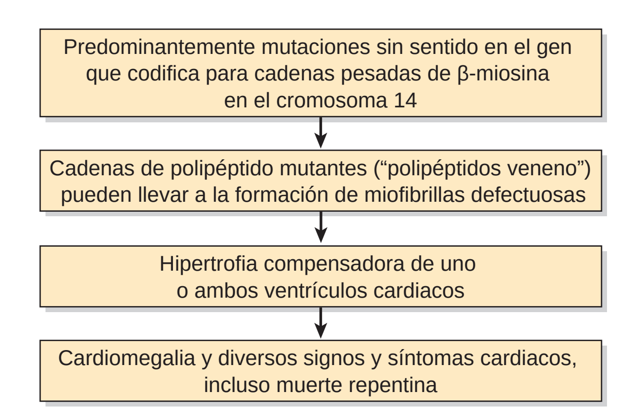


FIGURA 49-13 Esquema simplificado de la causa de la miocardiopatía hipertrófica familiar (OMIM 192600) debido a mutaciones del gen que codifica para la cadena pesada de β-miosina. Esta enfermedad también puede depender de mutaciones en genes que codifican para otras proteínas (véase el texto).

El **músculo liso** tiene estructura molecular similar a la del estriado, pero los sarcómeros no están alineados de modo que generen el aspecto estriado. El músculo liso contiene moléculas de α-actinina y tropomiosina, al igual que el esquelético. El músculo liso **carece del sistema de troponina**, y las cadenas ligeras de las moléculas de miosina del músculo liso difieren de las de la miosina del estriado. La regulación de la contracción del músculo liso está **basada en miosina**, a diferencia de la del músculo estriado, que está basada en actina. Aun así, al igual que el músculo estriado, la contracción del músculo liso está **regulada por Ca^{2+}**.

La fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción del músculo liso

Cuando la miosina del músculo liso se une a actina F en ausencia de otras proteínas musculares como la tropomiosina, **no hay actividad de ATPasa detectable**. Esta ausencia de actividad es bastante poco semejante a la situación descrita para la miosina y la actina F del músculo estriado, que tiene abundante actividad de ATPasa. La miosina del músculo liso contiene **cadenas ligeras** que evitan la unión de la cabeza de miosina a actina F; se **deben fosforilar** antes de que permitan que la actina F active a la ATPasa de miosina. La actividad de ATPasa entonces alcanzada hidroliza el ATP unas 10 veces más lentamente que la actividad correspondiente en el músculo esquelético. El fosfato en las cadenas ligeras de miosina puede formar un quelado con el Ca^{2+} unido al complejo de tropomiosina-TpC-actina, lo que lleva a un índice aumentado de formación de puentes transversales entre las cabezas de miosina y la actina. La fosforilación de cadenas ligeras **inicia** el ciclo de contracción del músculo liso con fijación-desprendimiento.

La cinasa de cadena ligera de miosina se activa por calmodulina-$4Ca^{2+}$, y después fosforila las cadenas ligeras

El sarcoplasma del músculo liso contiene una **cinasa de cadena ligera de miosina** que es dependiente del calcio. La activación de la cinasa de cadena ligera de miosina por el Ca^{2+} requiere unión de **calmodulina-$4Ca^{2+}$** a su subunidad cinasa (fig. 49-14). La cinasa de cadena ligera activada por calmodulina-$4Ca^{2+}$ fosforila las cadenas ligeras, que después dejan de inhibir la interacción entre miosina y actina F. Entonces empieza el ciclo de contracción.

En el músculo liso hay otra vía no dependiente de Ca^{2+} para iniciar la contracción, la cual comprende **Rho cinasa**, que es activada por diversos estímulos (que no se muestran en la fig. 49-14). Esta enzima fosforila a la fosfatasa de cadena ligera de miosina, lo que la inhibe y, así, aumenta la fosforilación de la cadena ligera. La Rho cinasa también fosforila de modo directo la cadena ligera de miosina. Estas dos acciones aumentan la contracción del músculo liso.

El músculo liso se relaja cuando la concentración de Ca^{2+} cae por debajo de 10^{-7} molar

El músculo liso se relaja cuando el Ca^{2+} sarcoplásmico cae por debajo de 10^{-7} mol/L. El **Ca^{2+}** se disocia de la calmodulina que, a su vez,

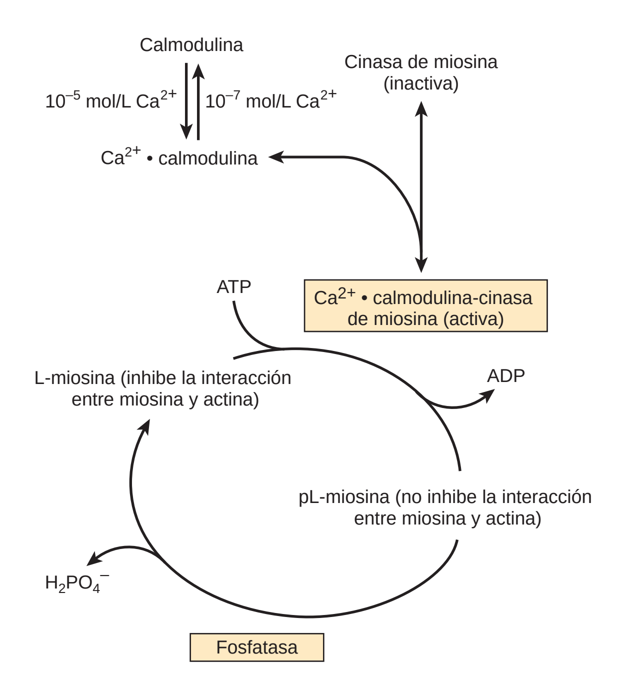


FIGURA 49-14 Regulación de la contracción del músculo liso por Ca^{2+}. La pL-miosina es la cadena ligera fosforilada de la miosina; la L-miosina es la cadena ligera desfosforilada. (Adaptada, con autorización, de Adelstein RS, Eisenberg R: Regulation and kinetics of actin-myosin ATP interaction. Annu Rev Biochem 1980;49:921. Copyright © 1980 por Annual Reviews, www.annualreviews.org.)

se disocia de la cinasa de cadena ligera de miosina, lo que inactiva la cinasa. No se fijan nuevos fosfatos a la cadena ligera p, y la **proteína fosfatasa de cadena ligera**, que es continuamente activa, e independiente del calcio, elimina de las cadenas ligeras los fosfatos existentes. La cadena ligera p de miosina desfosforilada a continuación inhibe la unión de cabezas de miosina a actina F y la actividad de ATPasa. La cabeza de miosina se desprende de la actina F en presencia de ATP, pero no puede volver a fijarse debido a la presencia de cadena ligera p desfosforilada; por consiguiente, ocurre **relajación**.

En el cuadro 49-7 se resume y compara la regulación de interacciones entre actina y miosina (activación de la ATPasa de miosina) en músculos estriado y liso.

El **cAMP** no afecta o activa de manera directa la cinasa de cadena ligera de miosina. De cualquier modo, la proteína cinasa activada por cAMP puede fosforilar a la cinasa de cadena ligera de miosina (no las cadenas ligeras en sí). La cinasa de cadena ligera de miosina fosforilada muestra una afinidad significativamente menor por calmodulina-Ca^{2+} y, así, es menos sensible a activación. En consecuencia, un **aumento del cAMP disminuye la respuesta de contracción** del músculo liso a un aumento dado del Ca^{2+} sarcoplásmico. Este mecanismo molecular puede explicar el efecto relajante de la estimulación β-adrenérgica sobre el músculo liso.

Otra proteína que parece desempeñar una función dependiente de Ca^{2+} en la regulación de la contracción del músculo liso es la **caldesmona** (87 kDa). Esta proteína es omnipresente en el músculo liso y se encuentra también en tejido que no es músculo. A concentraciones bajas de Ca^{2+} se une a la tropomiosina y actina. Esto **evita la interacción de la actina con la miosina**, y mantiene el músculo en un estado relajado. A concentraciones más altas de Ca^{2+}, la Ca^{2+}-calmodulina se une a la caldesmona, **lo que la libera de la actina**. Esta última a continuación está libre para unirse a la miosina, y puede ocurrir contracción. La caldesmona también está sujeta a fosforilación-desfosforilación; cuando está fosforilada, no puede unirse a la actina, lo que de nuevo libera a esta última para interactuar con la miosina. La caldesmona quizá también participe en la organización de la estructura del aparato contráctil en el músculo liso. Muchos de sus efectos se han demostrado *in vitro*, y aún se está investigando su importancia fisiológica.

El ingreso a ciclos lentos de los puentes transversales permite la contracción prolongada del músculo liso (p. ej., en vísceras y vasos sanguíneos) con menos utilización de ATP en comparación

CUADRO 49-7 Interacciones entre actina y miosina en los músculos estriado y liso

	Músculo estriado	Músculo liso (y células no musculares)
Proteínas de filamentos musculares	Actina Miosina Tropomiosina Troponina (TpI, TpT, TpC)	Actina Miosina[1] Tropomiosina
Interacción espontánea de actina F y miosina solas (activación espontánea de la ATPasa de miosina por la actina F)	Sí	No
Inhibidor de la interacción entre actina F y miosina (activación de ATPasa dependiente de inhibidor de actina F)	Sistema de troponina (TpI)	Cadena ligera de miosina no fosforilada
Contracción activada por	Ca^{2+}	Ca^{2+}
Efecto directo del Ca^{2+}	$4Ca^{2+}$ se une a TpC	$4Ca^{2+}$ se une a calmodulina
Efecto de Ca^{2+} unido a proteína	TpC $4Ca^{2+}$ antagoniza la inhibición de la interacción entre actina F y miosina por TpI (permite la activación de ATPasa por la actina F)	La calmodulina $4Ca^{2+}$ activa a la cadena ligera de miosina cinasa que fosforila la cadena ligera p de miosina. La cadena ligera p fosforilada ya no inhibe la interacción entre actina F y miosina (permite la activación de ATPasa por la actina F)

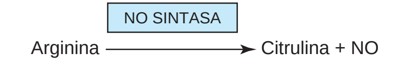
[1] Las cadenas ligeras de miosina son diferentes en los músculos liso y estriado.

con el músculo estriado (cuadro 49-3). La capacidad del músculo liso para mantener fuerza a velocidades de contracción reducidas se denomina el **estado de pestillo**; esta es una característica importante del músculo liso, y su base molecular precisa se encuentra en estudio.

El óxido nítrico relaja el músculo liso de los vasos sanguíneos, y tiene muchas otras funciones biológicas importantes

La acetilcolina es un vasodilatador que actúa al causar relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos; sin embargo, no actúa de manera directa sobre el músculo liso. Una observación clave fue que si las **células endoteliales** se separaban de las células de músculo liso subyacentes, la acetilcolina ya no ejercía su efecto vasodilatador. Este dato indicó que los vasodilatadores como la acetilcolina inicialmente interactúan con las células endoteliales de los vasos sanguíneos de pequeño calibre por medio de receptores. Los receptores están acoplados al ciclo de la fosfoinositida, lo que lleva a la liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de la acción del trifosfato de inositol. A su vez, el aumento del Ca^{2+} lleva a la liberación de **factor relajante derivado del endotelio (EDRF)**, que se difunde hacia el músculo liso adyacente. Ahí, reacciona con la porción hem de una guanilil ciclasa soluble, lo que da por resultado la activación de esta última, con aumento consiguiente de las concentraciones intracelulares de **cGMP** (fig. 49-15). Esto, a su vez, estimula las actividades de ciertas proteína cinasas dependientes de cGMP, que probablemente fosforila proteínas musculares específicas, lo que causa relajación; no obstante, los detalles aún se están esclareciendo. El importante vasodilatador de arteria coronaria, **nitroglicerina**, ampliamente usado para aliviar angina de pecho, actúa para aumentar la liberación intracelular de EDRF y, así, de cGMP.

De manera bastante inesperada, se encontró que el EDRF es el **gas óxido nítrico (NO)**. El NO se forma mediante la acción de la enzima NO sintasa, que es citosólica. Las formas endotelial y neuronal de la NO sintasa se activan por medio de Ca^{2+} (cuadro 49-8). El sustrato es **arginina**, y los productos son citrulina y NO.



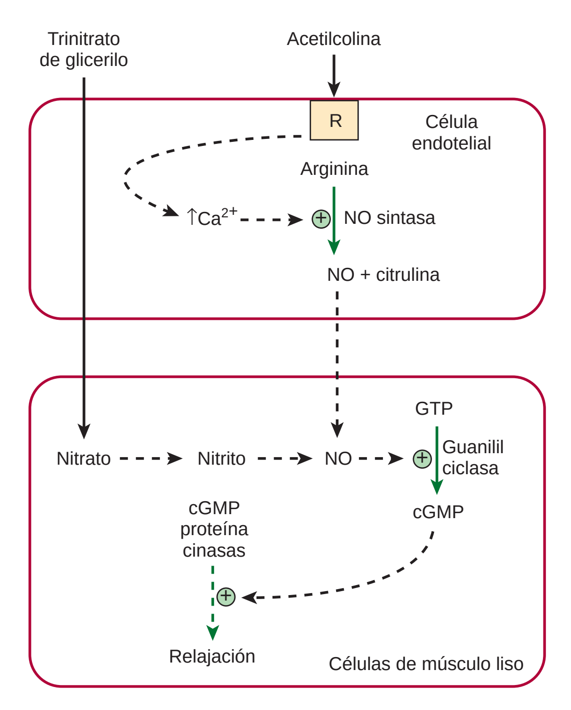


FIGURA 49-15 Diagrama que muestra la formación de óxido nítrico (NO) a partir de arginina en una reacción catalizada por la NO sintasa en una célula endotelial. La interacción de un agonista (p. ej., acetilcolina) con un receptor (R) probablemente lleva a liberación intracelular de Ca^{2+} por medio de trifosfato de inositol generado mediante la vía de la fosfoinositida, lo que da por resultado activación de la NO sintasa. El NO después se difunde hacia músculo liso adyacente, donde lleva a la activación de la guanilil ciclasa, formación de cGMP, estimulación de cGMP proteína cinasas, y relajación subsiguiente. Se muestra el vasodilatador nitroglicerina entrando en la célula de músculo liso, donde su metabolismo también lleva a la formación de NO.

La **NO sintasa** cataliza una oxidación de cinco electrones de un nitrógeno amidina de la arginina. La L-hidroxiarginina es un intermediario que permanece estrechamente unido a la enzima. La NO sintasa es una enzima muy compleja; emplea cinco cofactores redox: NADPH, FAD, FMN, hem y tetrahidrobiopterina. El NO también puede formarse a partir de **nitrito**, derivado de vasodilatadores como trinitrato de glicerilo durante su metabolismo. El NO tiene una vida muy breve (de aproximadamente 3 a 4 s) en los tejidos

CUADRO 49-8 Resumen de la nomenclatura de las NO sintasas y de los efectos del knockout de sus genes en ratones

Subtipo	Nombre[1]	Comentarios	Resultado del knockout de gen en ratones[2]
1	nNOS	La actividad depende de Ca^{2+}; se identificó por vez primera en neuronas; activada por calmodulina	Estenosis pilórica, resistente a apoplejía vascular, conducta sexual agresiva (machos)
2	iNOS[3]	Independiente de Ca^{2+} alto; prominente en macrófagos	Más susceptible a ciertos tipos de infección
3	eNOS	La actividad depende de Ca^{2+} alto; se identificó por vez primera en células endoteliales	Presión arterial media alta

Fuente: Adaptado de Snyder SH: NO. Nature 1995;377:196.
[1] n, neuronal; i, inducible; e, endotelial.
[2] Los knockout de gen se efectuaron mediante recombinación homóloga en ratones. Las enzimas se caracterizan como neuronal, inducible (macrófago) y endotelial porque éstos fueron los sitios en los cuales se identi caron por vez primera. Aun así, las tres enzimas se han encontrado en otros sitios y la enzima neuronal también es inducible. Cada gen se ha clonado, y se ha determinado su ubicación cromosómica en seres humanos.
[3] La iNOS es independiente de Ca^{2+} pero se une de manera muy estrecha a la calmodulina.

porque reacciona con oxígeno y superóxido. El producto de la reacción con superóxido es el **peroxinitrito** ($ONOO^-$), que se descompone para formar el radical $OH^\bullet$ muy reactivo. El NO es inhibido por la hemoglobina y otras proteínas, que se le unen de manera estrecha. Ahora se dispone de **inhibidores químicos de la NO sintasa** que pueden disminuir de manera notoria la formación de NO. La administración de esos inhibidores a animales y seres humanos lleva a vasoconstricción y un notorio aumento de la presión arterial, lo que indica que el NO tiene gran importancia en el mantenimiento de la presión arterial *in vivo.* Otro efecto cardiovascular importante es que al aumentar la síntesis de cGMP, actúa como un **inhibidor de la agregación plaquetaria** (cap. 51).

Desde el descubrimiento de la función del NO como vasodilatador, ha habido intenso interés experimental por esta molécula. Ha resultado que desempeña diversas funciones fisiológicas, que comprenden casi todos los tejidos del organismo (cuadro 49-9). Se han identificado tres isoformas importantes de la NO sintasa, cada una de las cuales se ha clonado, y se han determinado las ubicaciones cromosómicas de sus genes en seres humanos. Se han realizado experimentos de noqueo de gen sobre cada una de las tres isoformas, y han ayudado a establecer algunas de las funciones postuladas del NO.

En resumen, la investigación efectuada durante el decenio pasado ha mostrado que el NO desempeña una función importante en muchos procesos fisiológicos y patológicos.

CUADRO 49-9 Algunas funciones fisiológicas y afecciones patológicas del óxido nítrico (NO)

• Vasodilatador, importante en la regulación de la presión arterial
• Participa en la erección del pene; el citrato de sildenafil (Viagra) afecta este proceso al inhibir una cGMP fosfodiesterasa
• Neurotransmisor en el cerebro y el sistema nervioso autónomo periférico
• Participación en la potenciación a largo plazo
• Participación en la neurotoxicidad
• La concentración baja de NO está involucrada en la causa del pilorospasmo en la estenosis pilórica hipertrófica en lactantes
• Quizá participe en la relajación del músculo esquelético
• Tal vez constituya parte de un sistema inmunitario primitivo
• Inhibe la adherencia, activación y agregación de plaquetas

VARIOS MECANISMOS REABASTECEN LAS RESERVAS DE ATP EN EL MÚSCULO

El **ATP** requerido como la fuente de energía constante para el ciclo de contracción-relajación de músculo puede generarse: 1) mediante glucólisis, usando glucosa sanguínea o glucógeno muscular; 2) mediante fosforilación oxidativa; 3) a partir de fosfato de creatina, y 4) a partir de dos moléculas de ADP en una reacción catalizada por adenilil cinasa (fig. 49-16). La cantidad de ATP en el músculo esquelético sólo es suficiente para proporcionar energía para contracción durante algunos segundos, de modo que el ATP se debe renovar constantemente a partir de una o más de las fuentes anteriores, dependiendo de las condiciones metabólicas. Como se comenta más adelante, hay al menos **dos tipos de fibras** en el músculo esquelético, una predominantemente activa en condiciones **aeróbicas**, y la otra en condiciones **anaeróbicas**; como es de esperarse, usan cada una de las fuentes de energía anteriores en diferentes grados.

El músculo esquelético contiene grandes reservas de glucógeno

El sarcoplasma del músculo esquelético contiene grandes reservas de **glucógeno**, ubicadas en gránulos cerca de las bandas I. La liberación de glucosa a partir del glucógeno depende de una **glucógeno fosforilasa** muscular específica (cap. 19), que puede ser activada por Ca^{2+}, epinefrina y AMP. Para generar glucosa 6-fosfato para glu-

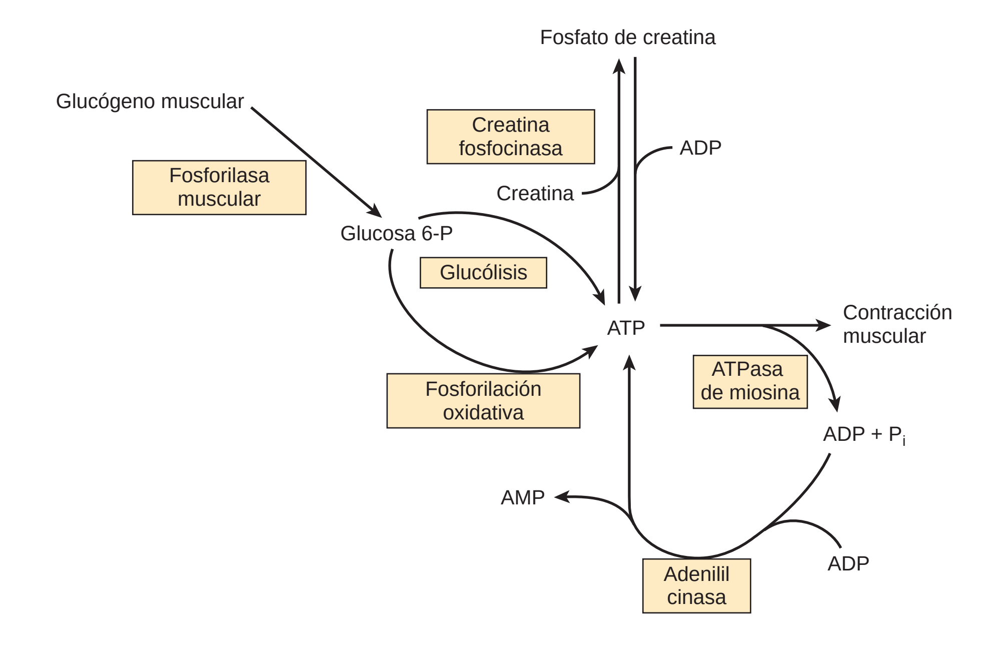


FIGURA 49-16 Las múltiples fuentes de ATP en el músculo.

cólisis en el músculo esquelético, la glucógeno fosforilasa b debe activarse hacia fosforilasa mediante fosforilación por la fosforilasa b cinasa (cap. 19). El Ca^{2+} promueve la activación de fosforilasa b cinasa, también mediante fosforilación. Así, el Ca^{2+} tanto inicia la contracción muscular como activa una vía para proporcionar la energía necesaria. La hormona **epinefrina** también activa la glucogenólisis en el músculo. El **AMP**, que se produce por desintegración del ADP durante el ejercicio muscular, también puede activar a la fosforilasa b sin causar fosforilación. La glucógeno fosforilasa b muscular es inactiva en la **enfermedad de McArdle**, una de las enfermedades por depósito de glucógeno (cap. 19).

En condiciones aeróbicas, el músculo genera ATP principalmente mediante fosforilación oxidativa

La síntesis de ATP por medio de **fosforilación oxidativa** requiere un aporte de oxígeno. Los músculos que tienen demanda alta de oxígeno como resultado de contracción sostenida (p. ej., para mantener la postura) lo almacenan unido a la porción hem de la **mioglobina**. Debido a la porción hem, los músculos que contienen mioglobina son de color rojo, mientras que aquellos con poca o ninguna mioglobina son de color blanco. La **glucosa**, derivada de la glucosa sanguínea o de glucógeno endógeno, y los **ácidos grasos** derivados de los triacilgliceroles del tejido adiposo, son los principales sustratos que se usan para el metabolismo aeróbico en el músculo.

El fosfato de creatina constituye una importante reserva de energía en el músculo

El **fosfato de creatina** evita el agotamiento rápido de ATP al proporcionar un fosfato de alta energía fácilmente disponible que puede usarse para regenerar ATP a partir de ADP. El fosfato de creatina se forma a partir de ATP y creatina (fig. 49-16) en momentos en que el músculo está relajado y las demandas de ATP no son tan grandes. La enzima que cataliza la fosforilación de la creatina es la **creatina cinasa** (CK), una enzima específica para músculo que tiene utilidad clínica en la detección de enfermedades agudas o crónicas de este último.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONTIENE FIBRAS DE CONTRACCIÓN LENTA (ROJAS) Y RÁPIDA (BLANCAS)

Se han detectado diferentes tipos de fibras en el músculo esquelético. Una clasificación las subdivide en tipo I (de contracción lenta), tipo IIA (contracción rápida-oxidativa) y tipo IIB (contracción rápida-glucolítica). En aras de la sencillez, sólo se considerarán dos tipos: tipo I (contracción lenta, oxidativa) y tipo II (contracción rápida, glucolítica) (cuadro 49-10). Las fibras **tipo I** son rojas porque contienen mioglobina y mitocondrias; su metabolismo es aeróbico, y mantienen contracciones relativamente sostenidas. Las fibras **tipo II** carecen de mioglobina y contienen pocas mitocondrias, son de color blanco: obtienen su energía a partir de la glucólisis anaeróbica, y muestran duraciones de contracción relativamente breves. La **proporción** de estos dos tipos de fibras varía entre los músculos del cuerpo, dependiendo de la función (p. ej., si un músculo participa o no en la contracción sostenida, como el mantenimiento de la postura). La proporción también varía con el **entrenamiento**; por ejemplo, el número de fibras tipo I en ciertos músculos de las piernas aumenta en atletas que entrenan para maratones, mientras que el número de fibras tipo II se incrementa en *sprinters*.

CUADRO 49-10 Características de las fibras tipos I y II del músculo esquelético

	Tipo I contracción lenta	Tipo II contracción rápida
ATPasa de miosina	Baja	Alta
Utilización de energía	Baja	Alta
Mitocondrias	Muchas	Pocas
Color	Rojo	Blanco
Mioglobina	Sí	No
Índice de contracción	Lento	Rápido
Duración	Prolongada	Breve

Un corredor de velocidad usa fosfato de creatina y glucólisis anaeróbica para sintetizar ATP, mientras que un maratonista emplea fosforilación oxidativa

En vista de los dos tipos de fibras en el músculo esquelético y de las diversas fuentes de energía ya descritas, es interesante comparar su participación en un *sprint* (p. ej., 100 m) y en el maratón (42.2 km; poco más de 26 millas) (cuadro 49-11).

Las principales fuentes de energía en el ***sprint* de 100 m** son el **fosfato de creatina** (primeros 4 a 5 s) y después la **glucólisis anaeróbica**, usando el glucógeno muscular como la fuente de glucosa. Los dos principales sitios de control metabólico están en la **glucógeno fosforilasa** y en la **PFK-1**. La primera se activa mediante el Ca^{2+} (liberado a partir del retículo sarcoplásmico durante la contracción), epinefrina y AMP. La PFK-1 se activa por AMP, P_i y NH_3. El flujo

CUADRO 49-11 Tipos de fibras musculares y principales fuentes de combustibles usadas por un *sprinter* y por un corredor de maratón

Sprinter (100 m)	Maratonista
Se usan de manera predominante fibras tipo II (glucolíticas)	Se usan de manera predominante fibras tipo I (oxidativas)
El fosfato de creatina es la principal fuente de energía durante los primeros 4 a 5 s	El ATP es la principal fuente de energía de principio a fin
La glucosa derivada del glucógeno muscular y metabolizada mediante glucólisis anaeróbica es la principal fuente de combustible	La glucosa y los ácidos grasos libres en la sangre son las principales fuentes de combustible
El glucógeno muscular se agota con rapidez	El glucógeno muscular se agota con lentitud

por glucólisis puede aumentar hasta 1 000 veces durante un *sprint*, lo que atestigua la eficiencia de estos procesos.

En contraste, en el **maratón**, el **metabolismo aeróbico** es la principal fuente de ATP. Las principales fuentes de combustible son la **glucosa sanguínea** y los **ácidos grasos libres**, en su mayor parte derivados de la desintegración de triacilgliceroles en el tejido adiposo, estimulada por la epinefrina. El glucógeno hepático se degrada para mantener la concentración de glucosa en la sangre. El glucógeno muscular también es una fuente de combustible, pero se degrada de manera mucho más paulatina que en un *sprint*. Se ha calculado que las cantidades de glucosa en la sangre, de glucógeno en el hígado, de glucógeno en el músculo, y de triacilglicerol en el tejido adiposo, son suficientes para proporcionar al músculo energía durante un maratón para 4 min, 18 min, 70 min y aproximadamente 4 000 min, respectivamente. Sin embargo, el índice de oxidación de ácidos grasos por el músculo es más lento que el de glucosa, de modo que la oxidación tanto de glucosa como de ácidos grasos es una fuente importante de energía en el maratón.

Los atletas han usado diversos procedimientos para contrarrestar la fatiga muscular y la fuerza inadecuada, entre los cuales se incluyen **carga de carbohidratos**, **carga de soda (bicarbonato de sodio)**, **dopaje con sangre** (administración de eritrocitos), e ingestión de **creatina** y **androstenediona**. Su lógica y eficacia no se comentarán aquí.

EL MÚSCULO ESQUELÉTICO CONSTITUYE LA PRINCIPAL RESERVA DE PROTEÍNA EN EL ORGANISMO

En seres humanos, la **proteína del músculo esquelético** es la principal fuente de energía almacenada que no es grasa. Esto explica las pérdidas muy grandes de masa muscular, particularmente en adultos, originadas por nutrición calórica insuficiente prolongada.

Es difícil estudiar *in vivo* la **desintegración de proteína hística**, porque los aminoácidos que se liberan durante la desintegración de proteína intracelular pueden reutilizarse de manera extensa para la síntesis de proteína dentro de las células, o los aminoácidos se pueden transportar hacia otros órganos donde entran en vías anabólicas. Empero, la actina y miosina se metilan mediante una reacción postraduccional, y forman **3-metilhistidina**. Durante la desintegración intracelular de actina y miosina, se libera 3-metilhistidina y se excreta hacia la orina. El gasto urinario del aminoácido metilado proporciona un índice fiable del índice de desintegración de proteínas miofibrilares en la musculatura de seres humanos.

El cuadro 49-12 resume diversas características del metabolismo muscular, la mayor parte de las cuales se aborda en otros capítulos de este libro.

CUADRO 49-12 Resumen de las principales características de las propiedades bioquímicas del músculo esquelético relacionadas con su metabolismo[1]

- El músculo esquelético funciona en condiciones tanto aeróbicas (en reposo) como anaeróbicas (p. ej., *sprints*), de modo que opera la glucólisis tanto aeróbica como anaeróbica, dependiendo de las condiciones.
- El músculo esquelético contiene mioglobina como un reservorio de oxígeno.
- El músculo esquelético contiene diferentes tipos de fibras principalmente idóneas para condiciones anaeróbicas (fibras de contracción rápida) o aeróbicas (fibras de contracción lenta).
- La actina, la miosina, tropomiosina, complejo de troponina (TpT, TpI y TpC), ATP, y Ca^{2+}, son constituyentes clave en relación con la contracción.
- La Ca^{2+} ATPasa, el canal de liberación de Ca^{2+}, y la calsecuestrina son proteínas que participan en diversos aspectos del metabolismo del Ca^{2+} en el músculo.
- La insulina actúa sobre el músculo esquelético para aumentar la captación de glucosa.
- En el estado posprandial, casi toda la glucosa se usa para sintetizar glucógeno, que actúa como una reserva de glucosa para uso en el ejercicio; algunos atletas de larga distancia usan "precarga" con glucosa para aumentar las reservas de glucógeno.
- La epinefrina estimula la glucogenólisis en el músculo esquelético, mientras que el glucagon no lo hace debido a la ausencia de sus receptores.
- El músculo esquelético no puede contribuir de manera directa a la glucosa sanguínea porque carece de glucosa-6-fosfatasa.
- El lactato producido por el metabolismo anaeróbico en el músculo esquelético pasa hacia el hígado, que lo usa para sintetizar glucosa, que después puede regresar al músculo (el ciclo de Cori).
- El músculo esquelético contiene fosfocreatina, que actúa como una reserva de energía para demandas a corto plazo (segundos).
- Los ácidos grasos libres en el plasma son una fuente importante de energía, particularmente en condiciones de maratón y en la inanición prolongada.
- El músculo esquelético puede utilizar cuerpos cetónicos durante la inanición.
- El músculo esquelético es el principal sitio de metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada, que se usan como fuente de energía.
- La proteólisis del músculo durante la inanición proporciona aminoácidos para gluconeogénesis.
- Los aminoácidos importantes que emanan del músculo son alanina (destinada principalmente para gluconeogénesis en el hígado y que forma parte del ciclo de la glucosa-alanina) y glutamina (destinada esencialmente para el intestino y los riñones).

[1]Este cuadro une material de diversos capítulos de este libro.

EL CITOESQUELETO DESEMPEÑA MÚLTIPLES FUNCIONES CELULARES

Las células no musculares desempeñan trabajo mecánico, lo que incluye autopropulsión, morfogénesis, división, endocitosis, exocitosis, transporte intracelular y cambio de la forma de la célula. Estas funciones celulares se llevan a cabo mediante una extensa red intracelular de estructuras filamentosas que constituyen el **citoesqueleto**. El citoplasma celular no es un saco de líquido, como alguna vez se creyó. En esencia, todas las células eucarióticas contienen tres tipos de estructuras filamentosas: **filamentos de actina** (también conocidos como microfilamentos), **microtúbulos** y **filamentos intermedios**. Cada tipo de filamento puede distinguirse desde el punto de vista bioquímico y mediante el microscopio electrónico.

Los cuadros 49-13 y 49-14 resumen algunas propiedades de estas tres estructuras.

Las células no musculares contienen actina que forma microfilamentos

La **actina G** está presente en casi todas las células del cuerpo, si no es que en todas. Con concentraciones apropiadas de magnesio y cloruro de potasio, se polimeriza de manera espontánea para formar

CUADRO 49-13 Algunas propiedades de los microfilamentos y microtúbulos

	Microfilamentos	Microtúbulos
Proteína(s)	Actina	α y β-tubulinas
Diámetro	8 a 9 nm	25 nm
Funciones	Estructural, motilidad	Estructural, motilidad, polaridad

Nota: El cuadro 49-14 describe algunas propiedades de los filamentos intermedios.

CUADRO 49-14 Clases de filamentos intermedios en células eucarióticas y sus distribuciones

Proteínas	Masa molecular	Distribuciones
Laminas		
A, B y C	65 a 75 kDa	Lamina nuclear
Queratinas		
Tipo I (ácida)	40 a 60 kDa	Células epiteliales, pelo, uñas
Tipo II (básica)	50 a 70 kDa	
Parecida a vimentina		
Vimentina	54 kDa	Diversas células mesenquimatosas
Desmina	53 kDa	Músculo
Proteína ácida fibrilar glial	50 kDa	Células gliales
Periferina	66 kDa	Neuronas
Neurofilamentos		
Baja (L), media (M) y alta (H)[1]	60-130 kDa	Neuronas

Nota: Los filamentos intermedios tienen un diámetro aproximado de 10 nm, y desempeñan diversas funciones. Por ejemplo, las queratinas están distribuidas ampliamente en células epiteliales y se adhieren por medio de proteínas adaptadoras a desmosomas y hemidesmosomas. Las laminas proporcionan apoyo para la membrana nuclear.

[1] Se refiere a sus masas moleculares.

filamentos de **actina F** de doble hélice como los que se observan en el músculo. Hay al menos dos tipos de actina en células no musculares: β-actina y γ-actina. Ambos tipos pueden coexistir en la misma célula, y probablemente incluso copolimerizarse en el mismo filamento. En el citoplasma, la **actina F** forma **microfilamentos** de 7 a 9.5 nm que suelen existir como fascículos de una red de aspecto enmarañado. Estos fascículos son notorios justo por debajo de la membrana plasmática de muchas células, y se denominan **fibras de estrés**. Dichas fibras desaparecen a medida que la motilidad celular aumenta o en el momento de transformación maligna de células por sustancias químicas o virus oncogénicos.

Aunque no están organizados como en el músculo, los filamentos de actina en células no musculares interactúan con **miosina** para causar movimientos celulares.

Los microtúbulos contienen α- y β-tubulinas

Los **microtúbulos**, un componente integral del citoesqueleto celular, constan de tubos citoplásmicos de 25 nm de diámetro, y a menudo de longitud extrema (fig. 49-17). Los microtúbulos se necesitan para la formación y función del **huso mitótico** y, así, están presentes en todas las células eucarióticas. También participan en el movimiento intracelular de **vesículas** endocíticas y exocíticas, y forman los principales componentes estructurales de **cilios** y **flagelos**. Los microtúbulos son un componente importante de los **axones** y las **dendritas**, en los cuales mantienen la estructura y participan en el flujo axoplásmico de material a lo largo de estas prolongaciones neuronales.

Los **microtúbulos** son cilindros de 13 protofilamentos dispuestos de manera longitudinal, cada uno de los cuales consta de dímeros de **α-tubulina** y **β-tubulina**, proteínas estrechamente relacionadas de masa molecular de aproximadamente 50 kDa. Los dímeros de tubulina se montan hacia protofilamentos y después hacia hojas y posteriormente cilindros. Un centro organizador de microtúbulos, localizado alrededor de un par de centríolos, produce nucleación del crecimiento de nuevos microtúbulos. Una tercera especie de tubulina, la **γ-tubulina**, parece tener una función importante en este montaje. Se requiere **GTP** para el montaje. Diversas proteínas se relacionan con microtúbulos (**proteínas relacionadas con microtúbulos [MAP]**, una de las cuales es **tau**) y tienen funciones importantes en el montaje y la estabilización de microtúbulos. Los microtúbulos se encuentran en un estado de inestabilidad dinámica; constantemente se montan y desmontan. Muestran **polaridad** (extremos positivo y negativo); esto es importante en su crecimiento a partir de centríolos, y en su capacidad para dirigir el movimiento intracelular. Por ejemplo, en el transporte axonal, la proteína **cinesina**, con una actividad de ATPasa parecida a miosina, usa hidrólisis de ATP para mover vesículas por el axón hacia el extremo positivo de la formación microtubular. La **dineína citosólica**, otra proteína con actividad de ATPasa, proporciona la energía para el flujo de materiales en la dirección opuesta, hacia el extremo negativo. De modo similar, las **dineínas axonémicas** proveen la energía para los movimientos ciliar y flagelar. Otra proteína, la **dinamina**, usa GTP, y participa en la endocitosis. Las cinesinas, dineínas, dinamina y miosinas se denominan **motores moleculares**.

La falta de dineína en los cilios y flagelos da por resultado inmovilidad de los mismos, y lleva a esterilidad masculina, *situs inversus* e infección respiratoria crónica, enfermedad conocida como el **síndrome de Kartagener** (OMIM 244400). En individuos con este síndrome se han detectado mutaciones en genes que afectan la síntesis de dineína.

Ciertos **fármacos** se unen a microtúbulos y, así, interfieren con su montaje y desmontaje. Entre ellos se encuentran **colchicina** (que se usa para tratar artritis gotosa aguda), **vinblastina** (un alcaloide de la vinca usado para tratar ciertos tipos de cáncer), **paclitaxel** (eficaz contra cáncer ovárico) y **griseofulvina** (antimicótico).

Los filamentos intermedios difieren de los microfilamentos y los microtúbulos

Existe un sistema fibroso intracelular de filamentos con una periodicidad axial de 21 nm y un diámetro de 8 a 10 de nm que es intermedio entre el de microfilamentos (6 nm) y microtúbulos (23 nm). Se encuentran al menos cuatro clases de **filamentos intermedios** (cuadro 49-14).

Todos son moléculas alargadas, fibrosas, con un dominio de varilla central, una cabeza amino terminal, y una cola carboxilo ter-

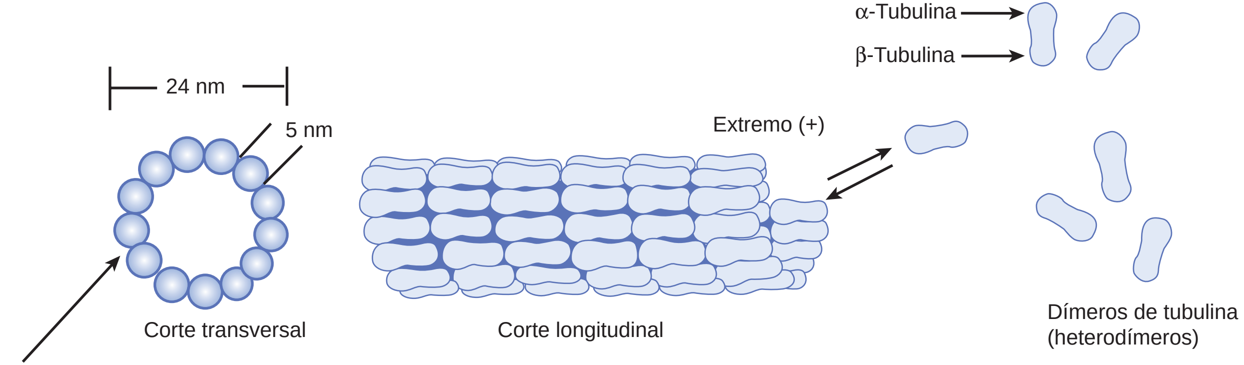


FIGURA 49-17 Representación esquemática de microtúbulos. En la parte superior izquierda se muestra un dibujo de microtúbulos como se observa en la microscopia electrónica después de fijación con ácido tánico en glutaraldehído. El ácido tánico denso delinea las subunidades de tubulina no teñidas. Los cortes transversales de túbulos revelan un anillo de 13 subunidades de dímeros dispuestos en una espiral. Los cambios de la longitud de microtúbulos se deben a la adición o pérdida de subunidades de tubulina individuales. Se encuentran disposiciones características de microtúbulos (que no se muestran aquí) en centríolos, cuerpos basales, cilios y flagelos. (Reproducida, con autorización, de Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: *Basic Histology,* 7th ed. Appleton & Lange, 1992.)

minal. Forman una estructura como una cuerda, y los filamentos maduros están compuestos de tetrámeros apretados entre sí de una manera helicoidal. Son componentes estructurales importantes de las células, y casi todos son componentes **relativamente estables** del citoesqueleto, que no pasan por montaje y desmontaje rápidos, y no desaparecen durante la mitosis, como lo hacen la actina y muchos otros filamentos microtubulares.

Una importante excepción a esto son las **laminas**, que, después de fosforilación, se desmontan en el momento de la mitosis y reaparecen cuando termina. Las **laminas** forman una red en yuxtaposición con la membrana nuclear interna.

Las mutaciones en el gen que codifica para **lamina A** y lamina C causan síndrome de progeria, de Hutchinson-Gilford **(progeria)** (OMIM 176670), caracterizado por **envejecimiento acelerado** y otras características. Una forma farnesilada (en la fig. 26-2 se presenta la estructura del farnesil) de prelamina A se acumula en la enfermedad, porque la mutación altera el sitio de acción proteolítica normal para dividir la porción farnesilada de la lamina A. La lamina A es un importante componente del andamiaje estructural que mantiene la integridad del núcleo de una célula. Parece ser que la acumulación de la prelamina A farnesilada hace inestables a los núcleos, lo que altera su forma, y de algún modo esto predispone a la aparición de signos de envejecimiento prematuro. Experimentos en ratones han indicado que la administración de un inhibidor de la farnesiltransferasa puede aminorar la aparición de núcleos deformes. Los niños afectados por esta enfermedad a menudo mueren durante la adolescencia por aterosclerosis. En la figura 49-18 se muestra un breve esquema de la causa de la progeria.

Las **queratinas** forman una familia grande; se distinguen alrededor de 30 miembros. Se encuentran dos tipos principales de queratinas (cuadro 49-14); todas las queratinas individuales son **heterodímeros** constituidos por un miembro de cada clase.

Las **vimentinas** están ampliamente distribuidas en células mesodérmicas, y la desmina, la proteína ácida fibrilar glial, y la periferina, se relacionan con ellas. Todos los miembros de la familia parecida a vimentina se pueden copolimerizar entre sí.

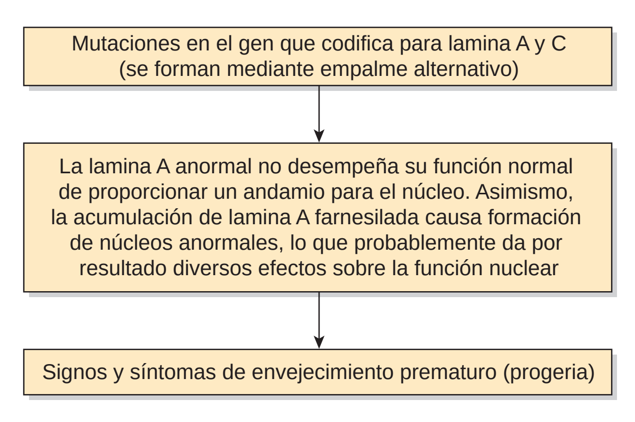


FIGURA 49-18 Esquema de la causa de la progeria (síndrome de Hutchinson-Gilford, OMIM 176670).

Los filamentos intermedios son muy prominentes en las células nerviosas; los neurofilamentos se clasifican como bajos, medios y altos con base en su masa molecular. La **distribución de filamentos intermedios** en células normales y anormales (p. ej., cancerosas) puede estudiarse mediante el uso de técnicas de inmunofluorescencia, usando anticuerpos de especificidades apropiadas. Estos anticuerpos contra filamentos intermedios específicos también pueden ser útiles a los patólogos al ayudarlos a determinar el origen de ciertos tumores malignos desdiferenciados. Estos tumores aún pueden retener el tipo de filamentos intermedios que se encuentran en su célula de origen.

Se ha encontrado que diversas **enfermedades cutáneas**, principalmente caracterizadas por formación de vesículas, se deben a mutaciones en los genes que codifican para **diversas queratinas**. Dos de estos trastornos son la epidermólisis ampollar simple (OMIM 131800) y la queratodermia palmoplantar epidermolítica (OMIM 144200). La formación de **vesículas** que se encuentra en estos trastornos probablemente refleja capacidad disminuida de diversas capas de la piel para resistir a tensiones mecánicas debido a anormalidades de la estructura de la queratina.

RESUMEN

- Las miofibrillas del músculo esquelético contienen filamentos gruesos y delgados. Los filamentos gruesos contienen miosina, y los delgados, actina, tropomiosina y el complejo de troponina (troponinas T, I y C).
- El modelo del puente transversal de filamento deslizante es el fundamento del pensamiento actual acerca de la contracción muscular. La base de este modelo es que los filamentos que muestran interdigitación se deslizan más allá uno de otro durante la contracción, y los puentes transversales entre miosina y actina generan la tensión y la sostienen.
- La hidrólisis de ATP se usa para impulsar el movimiento de filamentos. El ATP se une a cabezas de miosina y se hidroliza hacia ADP y P_i mediante la actividad de ATPasa del complejo de actomiosina.
- El Ca^{2+} desempeña una función clave en el inicio de la contracción muscular al unirse a la troponina C. En el músculo esquelético, el retículo sarcoplásmico regula la distribución de Ca^{2+} hacia los sarcómeros, mientras que el flujo hacia dentro de Ca^{2+} mediante canales de Ca^{2+} en el sarcolema tiene gran importancia en los músculos cardiaco y liso.
- Muchos casos de hipertermia maligna en seres humanos se deben a mutaciones en el gen que codifica para el canal de liberación de Ca^{2+}.
- Hay varias diferencias entre los músculos esquelético y cardiaco; en particular, este último contiene diversos receptores sobre su superficie.
- Algunos casos de miocardiopatía hipertrófica familiar se deben a mutaciones sin sentido en el gen que codifica para cadena pesada de β-miosina. También se han detectado mutaciones en genes que codifican para varias otras proteínas.
- El músculo liso, a diferencia de los músculos esquelético y cardiaco, no contiene el sistema de troponina; en su lugar, la fosforilación de cadenas ligeras de miosina inicia la contracción.
- El óxido nítrico es un regulador del músculo liso vascular; el bloqueo de su formación a partir de arginina causa un aumento agudo de la presión arterial, lo que indica que la regulación de esta última es una de sus principales funciones.
- La distrofia muscular tipo Duchenne se debe a mutaciones en el gen, localizado en el cromosoma X, que codifica para la proteína distrofina.
- Dos tipos importantes de fibras musculares se encuentran en seres humanos: blancas (anaeróbicas) y rojas (aeróbicas). Las primeras se usan particularmente en *sprints* y las segundas en ejercicio aeróbico prolongado. Durante un *sprint*, el músculo usa fosfato de creatina y glucólisis como fuentes de energía; en el maratón, la oxidación de ácidos grasos tiene gran importancia durante las fases más tardías.
- Las células no musculares desempeñan diversos tipos de trabajo mecánico llevado a cabo por las estructuras que constituyen el citoesqueleto. Estas estructuras incluyen filamentos de actina (microfilamentos), microtúbulos (compuestos principalmente de α-tubulina y β-tubulina), y filamentos intermedios. Estos últimos incluyen laminas, queratinas, proteínas parecidas a vimentina, y neurofilamentos. Las mutaciones en el gen que codifica para lamina A causan progeria, enfermedad caracterizada por envejecimiento prematuro. Las mutaciones en genes que codifican para ciertas queratinas provocan diversas enfermedades de la piel.

REFERENCIAS

Alberts B et al: *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. Garland Science, 2008. (Contains excellent coverage of muscle and the cytoskeleton.)

Brosnan JT, Brosnan ME: Creatine: endogenous metabolite, dietary and therapeutic supplement. Annu Rev Nutr 2007;27:241.

De La Cruz EM, Ostap EM: Relating biochemistry and function in the myosin superfamily. Curr Opin Cell Biol 2004;16:61.

Herrman H, Aebi U: Intermediate filaments: molecular structure, assembly mechanism, and integration into functionally distinct intracellular scaffolds. Annu Rev Biochem 2004;73:749.

Lodish H et al: *Molecular Cell Biology*, 6th ed. WH Freeman & Co, 2008. (Contains excellent coverage of muscle and the cytoskeleton.)

Matthews KD, Moore SA: Multicore myopathy, central core disease, malignant hyperthermia susceptibility, and RYR1 mutations: one disease with many faces? Arch Neurol 2004;61:106.

Murad F: Nitric oxide and cyclic GMP in cell signalling and drug development. N Engl J Med 2006;355:2003.

Murphy RT, Starling RC: Genetics and cardiomyopathy: where are we now? Cleve Clin J Med 2005;72:465.

Neubauer S: The failing heart—an engine out of fuel. N Engl J Med 2007;356:1140.

Palmer KJ, Watson P, Stephens DJ: The role of microtubules in transport between the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus in mammalian cells. Biochem Soc Symp 2005;72:1.

Pollard TD, Earnshaw WC: *Cell Biology*, 2nd ed. Saunders, 2008. (Contains excellent coverage of muscle and the cytoskeleton.)

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (This comprehensive four-volume text and its updated online edition [see Chapter 1] contain chapters on malignant hyperthermia, channelopathies, hypertrophic cardiomyopathy, the muscular dystrophies, and disorders of intermediate filaments.)

Webb RC: Smooth muscle contraction and relaxation. Adv Physiol Educ 2003;27:201.

Wehrens XHT, Lehnart SE, Marks AR: Intracellular calcium release and cardiac disease. Annu Rev Physiol 2005;67:69.

CAPÍTULO

50

Proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

La función fundamental de la sangre en el mantenimiento de la **homeostasis**, y la facilidad con la cual puede obtenerse sangre, han significado que el estudio de sus constituyentes ha sido esencial en el desarrollo de la bioquímica y la bioquímica clínica. En este capítulo se describen las propiedades básicas de diversas **proteínas plasmáticas**, incluso las **inmunoglobulinas** (anticuerpos). En muchas enfermedades ocurren cambios de las cantidades de diversas proteínas plasmáticas e inmunoglobulinas, y pueden vigilarse por medio de electroforesis u otros procedimientos idóneos. Como se indicó en un capítulo anterior, las alteraciones de las actividades de ciertas **enzimas** que se encuentran en el plasma tienen utilidad diagnóstica en diversos estados patológicos. En el capítulo 51 se comentan las proteínas plasmáticas que participan en la coagulación de la sangre.

LA SANGRE TIENE MUCHAS FUNCIONES

El plasma y sus constituyentes llevan a cabo las funciones de la sangre —excepto por las celulares específicas, como el transporte de oxígeno y la defensa inmunitaria mediada por células (cuadro 50-1).

El **plasma** consta de agua, electrólitos, metabolitos, nutrientes, proteínas y hormonas. La composición de agua y electrólitos del plasma es prácticamente la misma que la de todos los líquidos extracelulares. Las cuantificaciones de laboratorio de las cifras de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-, HCO_3^-, Pa_2co, y el pH de la sangre, tienen importancia en el manejo de muchos pacientes.

EL PLASMA CONTIENE UNA MEZCLA COMPLEJA DE PROTEÍNAS

La concentración de proteína total en el plasma de seres humanos es de alrededor de 7.0 a 7.5 g/dl, e incluye la mayor parte de los sólidos del plasma. Las proteínas del plasma en realidad son una mezcla compleja que comprende proteínas no sólo simples sino también conjugadas, como **glucoproteínas** y diversos tipos de **lipoproteínas**. El uso de técnicas de proteómica está permitiendo el aislamiento y la caracterización de proteínas plasmáticas previamente desconocidas, algunas presentes en cantidades muy pequeñas (p. ej., detectadas en el líquido de hemodiálisis y en el plasma de pacientes con cáncer), lo que así, expande el **proteoma plasmático**. El plasma de seres humanos contiene miles de **anticuerpos**, aunque en circunstancias normales la cantidad de cualquier anticuerpo por lo general es bastante baja. La figura 50-1 muestra las dimensiones relativas y la masa molecular de algunas de las proteínas plasmáticas más importantes.

La **separación** de proteínas individuales desde una mezcla compleja suele lograrse mediante el uso de solventes o electrólitos (o ambos) para eliminar diferentes fracciones de proteína de acuerdo con sus características de solubilidad. Ésta es la base de los denominados métodos de separación de una sustancia disuelta al añadir sal a la solución, que encuentran cierto uso en la determinación de fracciones proteínicas en el laboratorio clínico. De este modo, es posible separar las proteínas del plasma en tres grupos principales —**fibrinógeno**, **albúmina** y **globulinas**— por medio del uso de concentraciones variables de sodio o sulfato de amonio.

La **electroforesis** es el método de uso más frecuente para analizar proteínas plasmáticas. Hay muchos tipos de electroforesis, en cada una de las cuales se usa un medio de apoyo diferente. En laboratorios clínicos, el **acetato de celulosa** se emplea ampliamente como un medio de apoyo. Su uso permite resolución, después de tinción, de proteínas plasmáticas hacia cinco bandas, designadas fracciones albúmina, α_1, α_2, β y γ, respectivamente (fig. 50-2). La tira coloreada de acetato de celulosa (un medio de apoyo) se llama electroforetograma. Las cantidades de estas cinco bandas se pueden cuantificar de manera conveniente por medio del uso de aparatos de escaneo densitométricos. En muchas enfermedades se encuentran cambios característicos de las cantidades de una o más de estas cinco bandas.

Las cifras de proteína en el plasma tienen importancia en la determinación de la distribución de líquido entre la sangre y los tejidos

En las arteriolas, la **presión hidrostática** es de aproximadamente 37 mm Hg; se opone a ella una presión intersticial (hística) de 1 mm Hg. La **presión osmótica** (presión oncótica) ejercida por las proteínas plasmáticas es de alrededor de 25 mm Hg. De este modo, una fuerza neta hacia afuera de unos 11 mm Hg impulsa el líquido hacia los espacios intersticiales. En las vénulas, la presión hidrostática es de alrededor de 17 mm Hg, con las presiones oncótica e intersticial como se describieron; así, una fuerza neta de alrededor de 9 mm Hg atrae agua de regreso hacia la circulación. Las presiones anteriores a menudo se denominan las **fuerzas de Starling**. Si la concentración de proteínas plasmáticas está notoriamente disminuida (p. ej., debido a desnutrición proteínica grave), el líquido no es atraído de regreso

CUADRO 50-1 Principales funciones de la sangre

1.	**Respiración** — transporte de oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos y de CO_2 desde los tejidos hacia los pulmones
2.	**Nutrición** — transporte de materiales alimenticios absorbidos
3.	**Excreción** — transporte de desecho metabólico hacia los riñones, los pulmones, la piel y los intestinos para eliminación
4.	Mantenimiento del **equilibrio acido-básico** normal en el organismo
5.	Regulación del **balance de agua** por medio de los efectos de la sangre sobre el intercambio de agua entre el líquido circulante y el líquido hístico
6.	Regulación de la **temperatura corporal** mediante la distribución de calor del cuerpo
7.	**Defensa** por los leucocitos y anticuerpos circulantes contra infección
8.	Transporte de **hormonas** y regulación del metabolismo
9.	Transporte de **metabolitos**
10.	**Coagulación**

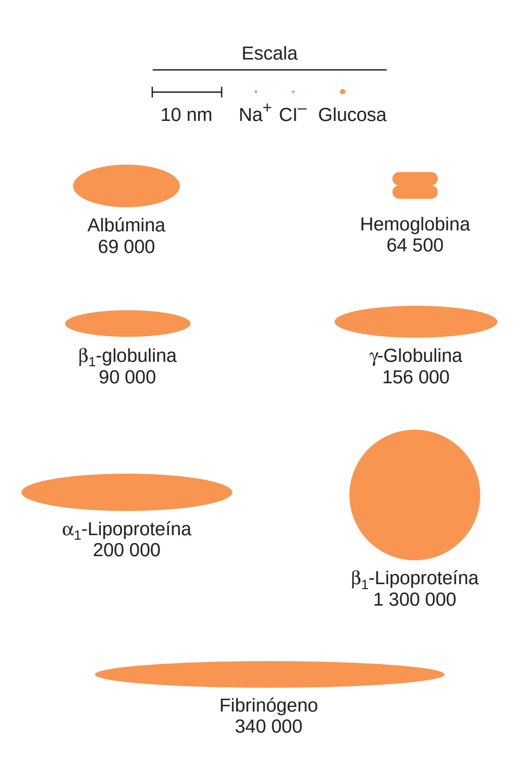


FIGURA 50-1 Dimensiones relativas y masas moleculares aproximadas de moléculas de proteína en la sangre (Oncley).

hacia el compartimento intravascular, y se acumula en los espacios hísticos extravasculares, un estado conocido como **edema**. El edema tiene muchas causas; la deficiencia de proteína es una de ellas.

Las proteínas plasmáticas se han estudiado de manera extensa

Debido a la relativa facilidad con la cual pueden obtenerse, las proteínas plasmáticas se han estudiado de manera exhaustiva tanto en seres humanos como en animales. Se dispone de considerable información acerca de la biosíntesis, el recambio, la estructura y las funciones de las principales proteínas plasmáticas. También se han investigado las alteraciones de sus cantidades y de su metabolismo en muchos estados morbosos. Durante los últimos años, muchos de los genes que codifican para proteínas plasmáticas se han clonado, y se ha determinado su estructura.

La preparación de **anticuerpos** específicos para las proteínas plasmáticas individuales ha facilitado mucho su estudio, y ha permitido la precipitación y el aislamiento de proteínas puras a partir de la mezcla compleja presente en los tejidos o el plasma. Además, el uso de **isótopos** ha posibilitado determinar sus vías de biosíntesis y sus índices de recambio en el plasma.

Las generalizaciones que siguen han surgido a partir de estudios de proteínas plasmáticas.

Casi todas las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado

Esto se ha establecido por medio de experimentos en el ámbito de animal entero (p. ej., hepatectomía), y mediante el uso de preparación de hígado perfundido aislado, de rebanadas de hígado, de homogeneizados de hígado, y de sistemas de traducción *in vitro* usando preparaciones de mRNA extraído del hígado. Sin embargo, las γ-globulinas se sintetizan en las células plasmáticas, y ciertas proteínas plasmáticas se sintetizan en otros sitios, como las células endoteliales.

Las proteínas plasmáticas por lo regular se sintetizan en polirribosomas unidos a membrana

Luego pasan por la principal ruta secretoria en la célula (membrana endoplásmica rugosa → membrana endoplásmica lisa → aparato de Golgi → vesículas secretorias) antes de entrar en el plasma. De este modo, casi todas las proteínas plasmáticas se sintetizan como **preproteínas**, e inicialmente contienen péptidos señal amino terminal (cap. 46). Por lo general quedan sujetas a diversas modificaciones postraduccionales (proteólisis, glucosilación, fosforilación, etc.) conforme viajan a través de la célula. Los tiempos de tránsito a través del hepatocito desde el sitio de síntesis hacia el plasma varían desde 30 min hasta varias horas o más para proteínas individuales.

Casi todas las proteínas plasmáticas son glucoproteínas

En consecuencia, generalmente contienen cadenas de oligosacárido N-enlazadas u O-enlazadas, o ambas (cap. 47). La albúmina es la principal excepción; no contiene residuos azúcar. Las cadenas de oligosacárido tienen diversas funciones (cuadro 47-2). La eliminación de residuos ácido siálico terminales de ciertas proteínas plasmáticas (p. ej., ceruloplasmina) por medio de exposición a neuraminidasa puede acortar notoriamente su vida media en el plasma (cap. 47).

Muchas proteínas plasmáticas muestran polimorfismo

Un **polimorfismo** es un rasgo mendeliano o monogénico que existe en la población en al menos dos fenotipos, ninguno de los cuales es raro (es decir, ninguno de los cuales sucede con frecuencia de menos de 1 a 2%). Las sustancias del grupo sanguíneo ABO (cap. 52) son los ejemplos más conocidos de polimorfismos de ser humano.

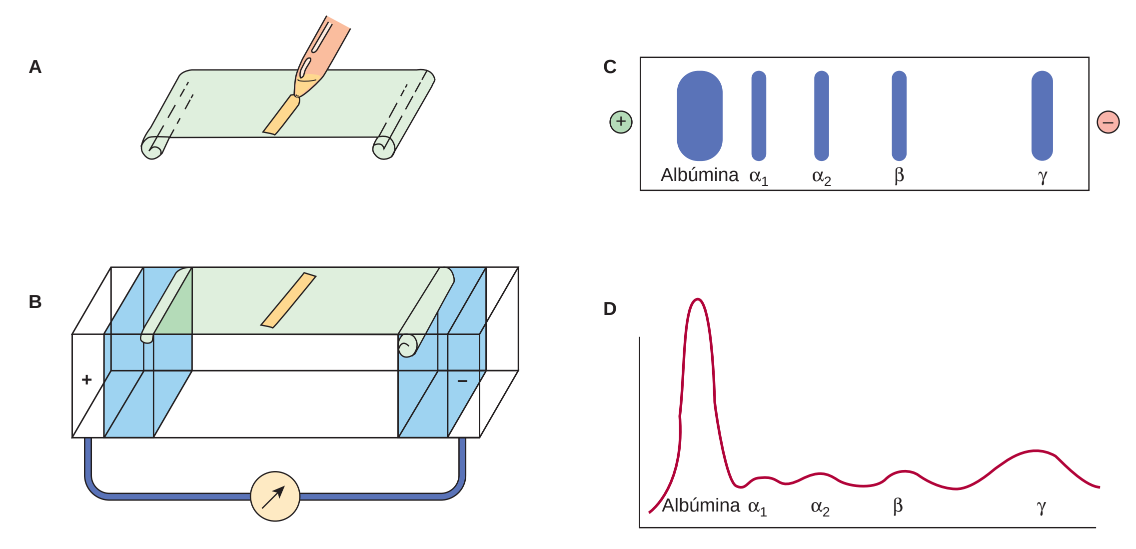


FIGURA 50-2 Técnica de electroforesis de zona en acetato de celulosa. **(A)** Una pequeña cantidad de suero u otro líquido se aplica a una tira de acetato de celulosa. **(B)** Se efectúa electroforesis de la muestra en amortiguador de electrólito. **(C)** Bandas de proteína separadas se visualizan en posiciones características luego de ser teñidas. **(D)** El escaneo con densitómetro desde la tira de acetato de celulosa convierte las bandas en picos de albúmina, α_1-globulina, β_2-globulina, β-globulina y γ-globulina característicos. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG *et al.* [editores]: *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

Las proteínas plasmáticas de ser humano que muestran polimorfismo son α_1-antitripsina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina e inmunoglobulinas. Las formas polimórficas de estas proteínas pueden distinguirse mediante diferentes procedimientos (p. ej., diversos tipos de electroforesis o enfoque isoeléctrico), en los cuales cada forma puede mostrar una migración característica. Los análisis de estos polimorfismos de ser humano han resultado tener interés genético, antropológico y clínico.

Cada proteína plasmática tiene una vida media característica en la circulación

La **vida media** de una proteína plasmática puede determinarse al marcar la proteína pura aislada con ^{131}I o Cr^{51} en condiciones leves, no desnaturalizantes. La proteína marcada se libera de isótopo libre no unido, y se determina su actividad específica (desintegraciones por minuto por miligramo de proteína). A continuación se inyecta una cantidad conocida de la proteína radiactiva en un sujeto adulto normal, y se obtienen muestras de sangre a diversos intervalos de tiempo para cuantificaciones de radiactividad. Los valores para radiactividad se grafican contra el tiempo, y la vida media de la proteína (el tiempo para que la radiactividad decline hasta la mitad de su valor máximo) se puede calcular a partir del gráfico resultante, descontando los tiempos para que la proteína inyectada se equilibre (mezcle) en la sangre y en los espacios extravasculares. Las vidas medias obtenidas para la albúmina y la haptoglobina en adultos sanos normales son de alrededor de 20 y 5 días, respectivamente. En ciertas enfermedades, la vida media de una proteína puede estar muy alterada. Por ejemplo, en algunas enfermedades gastrointestinales, como la ileítis regional (enfermedad de Crohn), cantidades considerables de proteínas plasmáticas, incluso albúmina, pueden perderse hacia el intestino a través de la mucosa intestinal inflamada. Quienes padecen esta enfermedad tienen una **gastroenteropatía perdedora de proteína**, y en estos sujetos la vida media de la albúmina yodada inyectada puede reducirse hasta apenas un día.

Las cifras de ciertas proteínas en el plasma aumentan durante estados inflamatorios agudos o como consecuencia de ciertos tipos de daño de tejido

Estas proteínas se designan "**proteínas de fase aguda"** (o reactivos de fase aguda), e incluyen **proteína C reactiva** (CRP, así llamada porque reacciona con el polisacárido C de neumococos), α_1-antitripsina, haptoglobina, α_1-glucoproteína y **fibrinógeno**. El incremento de las concentraciones de estas proteínas varía desde apenas 50% hasta 1 000 veces en el caso de la CRP. Sus cifras por lo general también están altas durante estados inflamatorios crónicos, y en individuos con cáncer. Se cree que estas proteínas participan en la respuesta del organismo a la inflamación. Por ejemplo, la CRP puede estimular la vía del complemento clásica, y la α_1-antitripsina puede neutralizar ciertas proteasas liberadas durante el estado inflamatorio agudo. La CRP se emplea como un marcador de lesión hística, infección e inflamación, y hay considerable interés por su uso como un factor predictivo de ciertos tipos de enfermedades cardiovasculares consecutivas a aterosclerosis. La citocina (= una proteína sintetizada por células, que afecta la conducta de otras células) interleucina-1 (IL-1), un polipéptido liberado a partir de células fagocíticas mononucleares, es el principal estimulador de las síntesis de casi todos los reactivos de fase aguda por hepatocitos. Participan otras moléculas, como la IL-6 y, al igual que la IL-1, parecen funcionar en el ámbito de la transcripción de gen.

El **factor nuclear kappa-B (NFκB)** es un factor de transcripción que ha quedado comprendido en la estimulación de la síntesis de algunas de las proteínas de fase aguda. Este factor importante también participará en la expresión de muchas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, y moléculas de adherencia celular im-

plicadas en fenómenos inmunitarios. En circunstancias normales existe en una forma inactiva en el citosol, pero se activa y se transloca hacia el núcleo por medio de la acción de diversas moléculas (p. ej., IL-1) producidas en procesos como inflamación, infección y lesión por radiación.

En el cuadro 50-2 se resumen las funciones de muchas de las proteínas plasmáticas. En el resto de este capítulo se presenta información básica respecto a proteínas plasmáticas seleccionadas: albúmina, haptoglobina, transferrina, ceruloplasmina, α_1-antitripsina, α_2-macroglobulina, las inmunoglobulinas y el sistema de complemento. Las lipoproteínas se comentan en el capítulo 25. Es una constante expectativa que se obtenga información nueva sobre proteínas plasmáticas y sus variantes (incluso las comentadas aquí), a medida que las técnicas de proteómica, en especial nuevos métodos sensibles para determinar secuencias de proteínas mediante espectrometría de masa (cap. 4), se aplican a su estudio. Varios laboratorios están participando en esfuerzos por determinar el **proteoma de proteínas plasmáticas de ser humano** completo. Se cree que esto aclarará **variaciones genéticas** en seres humanos, y proporcionará muchos **biomarcadores** nuevos para ayudar en el diagnóstico de muchas enfermedades. (Un biomarcador se ha definido como una característica que se mide de manera objetiva y se evalúa como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.)

CUADRO 50-2 Algunas funciones de las proteínas plasmáticas

Función	Proteínas plasmáticas
Antiproteasas	Antiquimotripsina α_1-Antitripsina (α_1-antiproteinasa) α_2-Macroglobulina Antitrombina
Coagulación de la sangre	Diversos factores de la coagulación, fibrinógeno
Enzimas	Función en la sangre, p. ej., factores de la coagulación, colinesterasa Escape desde células o tejidos, p. ej., aminotransferasas
Hormonas	Eritropoyetina[1]
Defensa inmunitaria	Inmunoglobulinas, proteínas del complemento, β_2-microglobulina
Participación en respuestas inflamatorias	Proteínas de respuesta de fase aguda (p. ej., proteína C reactiva, glucoproteína α_1-ácida [orosomucoide])
Oncofetal	α_1-fetoproteína (AFP)
Proteínas de transporte o unión	Albúmina (diversos ligandos, entre ellos bilirrubina, ácidos grasos libres, iones [Ca^{2+}], metales [p. ej., Cu^{2+}, Zn^{2+}], metemo, esteroides, otras hormonas, y diversos fármacos) Ceruloplasmina (contiene Cu^{2+}; la albúmina probablemente tiene mayor importancia en el transporte fisiológico de Cu^{2+}) Globulina de unión a corticosteroide (transcortina) (se une a cortisol) Haptoglobina (se une a hemoglobina extracorpuscular) Lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL) Hemopexina (se une a hem) Proteína de unión a retinol (se une a retinol) Globulina de unión a hormona sexual (se une a testosterona, estradiol) Globulina de unión a hormona tiroidea (se une a T_4, T_3) Transferrina (transporte de hierro) Transtiretina (antes prealbúmina; se une a T_4 y forma un complejo con proteína de unión a retinol)

[1] Varias otras hormonas proteínicas circulan en la sangre, pero por lo general no se denominan proteínas plasmáticas. De modo similar, la ferritina también se encuentra en el plasma en cantidades pequeñas, pero tampoco suele caracterizarse como proteína plasmática.

La albúmina es la principal proteína en el plasma del ser humano

La albúmina (69 kDa) es la principal proteína del plasma humano (3.4 a 4.7 g/dl), y constituye un 60% de la proteína plasmática total. Alrededor de 40% de la albúmina está presente en el plasma, y el otro 60%, en el espacio extracelular. El hígado produce unos 12 g de albúmina por día, lo que representa alrededor de 25% de la síntesis de proteína hepática total, y la mitad de su proteína secretada. La albúmina inicialmente se sintetiza como una **preproproteína**. Su **péptido señal** se elimina conforme pasa hacia las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, y un **hexapéptido** en el amino terminal resultante después se rompe más lejos a lo largo de la vía secretoria (fig. 46-11). La síntesis de albúmina está deprimida en diversas enfermedades, en particular las del hígado. El plasma de pacientes con **enfermedad hepática** a menudo muestra una disminución de la proporción albúmina:globulina (proporción reducida entre albúmina y globulina). La síntesis de albúmina disminuye en etapas relativamente tempranas en estados de malnutrición proteínica, como el kwashiorkor.

La albúmina humana madura consta de una cadena polipeptídica de 585 aminoácidos, y contiene 17 enlaces disulfuro. Por medio del uso de proteasas, la albúmina puede subdividirse en tres **dominios**, que tienen diferentes funciones. La albúmina muestra una forma elipsoidal, lo que significa que no aumenta la viscosidad del plasma tanto como lo hace una molécula alargada, como el fibrinógeno. Debido a su masa molecular relativamente baja (alrededor de 69 kDa) y concentración alta, se cree que 75 a 80% de la **presión osmótica** del plasma de seres humanos depende de la albúmina. En estudios de electroforesis se ha mostrado que el plasma de ciertos seres humanos carece de albúmina. Se dice que estos pacientes muestran **analbuminemia**. Una causa de este estado es una mutación que afecta el empalme. Los enfermos con analbuminemia sólo muestran edema moderado, a pesar del hecho de que la albúmina es el principal determinante de la presión osmótica del plasma. Se cree que las cantidades de las otras proteínas plasmáticas se incrementan y compensan la falta de albúmina.

Otra función importante de la albúmina es su capacidad para **unirse a diversos ligandos**, los cuales incluyen ácidos grasos libres (FFA), calcio, ciertas hormonas esteroides, bilirrubina, y parte del triptófano plasmático. Más aún, la albúmina parece desempeñar una función importante en el transporte del cobre en el cuerpo humano (véase más adelante). Diversos fármacos, entre ellos las sulfonamidas, penicilina G, dicumarol y aspirina, están unidos a albúmina; este dato tiene inferencias farmacológicas importantes.

Las preparaciones de albúmina humana se han usado ampliamente en el tratamiento de choque hemorrágico y de quemaduras. Empero, algunos estudios recientes cuestionan la utilidad de esta terapia.

La haptoglobina se une a hemoglobina extracorpuscular, lo que evita que la hemoglobina libre entre en los riñones

La **haptoglobina** (Hp) es una glucoproteína plasmática que se une a la hemoglobina (Hb) extracorpuscular en un complejo no covalente estrecho (Hb-Hp). La cantidad de haptoglobina en el plasma humano varía desde 40 hasta 180 mg de capacidad de unión a hemoglobina por decilitro. Alrededor de 10% de la hemoglobina que se degrada cada día se libera hacia la circulación y, de este modo, es extracorpuscular. El otro 90% está presente en eritrocitos viejos, dañados, que son degradados por células del sistema histiocítico. La masa molecular de la hemoglobina es de aproximadamente 65 kDa, mientras que la de la forma polimórfica más simple de la haptoglobina (Hp 1-1) que se encuentra en seres humanos es de alrededor de 90 kDa. Así, el complejo de Hb-Hp tiene una masa molecular de aproximadamente 155 kDa. La hemoglobina libre pasa por los glomérulos de los riñones, entra en los túbulos, y tiende a precipitarse ahí (como puede ocurrir luego de una transfusión masiva de sangre incompatible, cuando se excede con mucho la capacidad de la haptoglobina para unirse a hemoglobina) (fig. 50-3). Con todo, el complejo de Hb-Hp es demasiado grande como para pasar por el glomérulo. De esta manera, la función de la Hp parece impedir pérdida de hemoglobina libre hacia los riñones. Esto conserva el valioso hierro presente en la hemoglobina, que de otro modo se perdería del organismo.

La haptoglobina humana existe en **tres formas polimórficas**, conocidas como Hp 1-1, Hp 2-1 y Hp 2-2. La Hp 1-1 migra como una banda única en la electroforesis en gel de almidón, mientras que las Hp 2-1 y Hp 2-2 muestran modelos de banda considerablemente más complejos. Dos genes, denominados Hp^1 y Hp^2, dirigen estos tres fenotipos; Hp 2-1 es el fenotipo heterocigoto. Se ha sugerido que el polimorfismo de haptoglobina puede relacionarse con la prevalencia de muchas enfermedades inflamatorias.

A. Hb → riñón → excretado en la orina o se precipita en los túbulos; se pierde hierro del cuerpo
(PM 65 000)

B. Hb + Hp → Hb : Hp complejo de ↛ riñón
(PM 65 000) (PM 90 000) (PM 155 000)
↓
Catabolizado por las células hepáticas; el hierro se conserva y se vuelve a usar

FIGURA 50-3 Destinos diferentes de la hemoglobina libre y del complejo de hemoglobina-haptoglobina.

Las cifras de haptoglobina en el plasma de ser humano varían, y tienen cierta utilidad diagnóstica. Los individuos con **anemias hemolíticas** muestran concentraciones bajas de haptoglobina. Esto se explica por el hecho de que mientras que la vida media de la haptoglobina es de alrededor de cinco días, la del complejo de Hb-Hp es de unos 90 min; los hepatocitos eliminan con rapidez el complejo del plasma. De esta manera, cuando la haptoglobina está unida a la hemoglobina, se elimina del plasma unas 80 veces más rápido que lo normal. Por ende, hay decremento rápido de las cifras de haptoglobina en situaciones en las cuales la hemoglobina se está liberando constantemente desde los eritrocitos, como sucede en las anemias hemolíticas. La haptoglobina es una proteína de fase aguda, y su concentración plasmática está alta en diversos estados inflamatorios.

La **proteína relacionada con haptoglobina** es otra proteína que se encuentra en el plasma de seres humanos. Tiene un alto grado de homología con la haptoglobina, y parece unirse a la hemoglobina. Sus cifras están altas en algunos sujetos con cáncer, aunque no se entiende la importancia de esto.

Algunas otras proteínas plasmáticas se **unen a hem**, no así a la hemoglobina. La **hemopexina** es una β_1-globulina que se une al hem libre. La **albúmina** se unirá a algo de metemo (hem férrico) para formar metemalbúmina, que después transfiere el metemo a la hemopexina.

La absorción de hierro desde el intestino delgado está estrechamente regulada

La **transferrina (Tf)** es una proteína plasmática que tiene una función esencial en el transporte de hierro en todo el cuerpo hacia sitios donde se requiere. Antes de que se comente más, se revisarán ciertos aspectos del metabolismo del hierro.

El **hierro** es importante en el organismo humano porque se encuentra en muchas hemoproteínas, como la hemoglobina, la mioglobina y los citocromos. Se ingiere en la dieta como hierro hem o no hem (fig. 50-4); como se muestra, estas diferentes formas involucran vías separadas. La absorción de hierro en la parte proximal del duodeno se encuentra estrechamente regulada, dado que no hay una vía fisiológica para su excreción desde el cuerpo. En circunstancias normales, el organismo guarda celosamente su contenido de hierro, de modo que un varón adulto sano sólo pierde alrededor de 1 mg/día, que se remplaza mediante absorción. Las adultas están más propensas a estados de deficiencia de hierro porque algunas pueden perder sangre excesiva durante la menstruación. En el cuadro 50-3 se muestran las cantidades de hierro en diversos compartimentos.

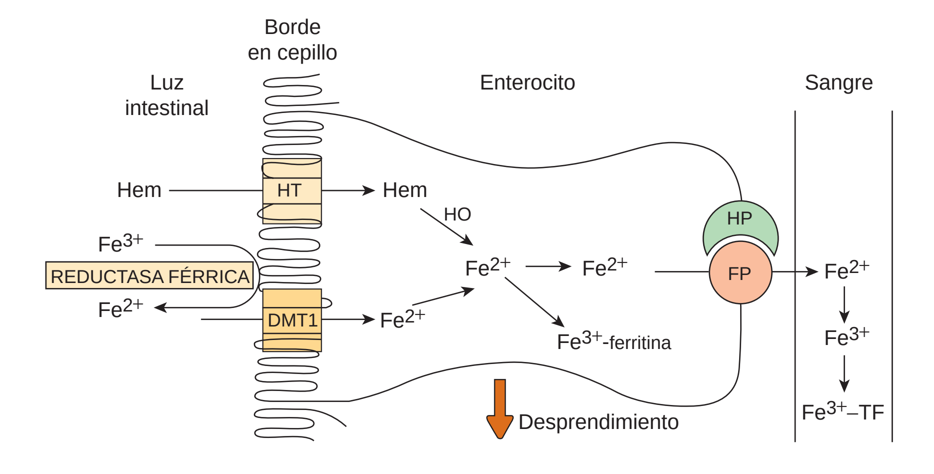


FIGURA 50-4 Absorción del hierro. El Fe^{3+} se convierte en Fe^{2+} mediante la férrico reductasa, y el Fe^{2+} se transporta hacia el enterocito por medio del transportador de hierro de la membrana apical DMT1. El hem se transporta hacia los enterocitos mediante un transportador de hem (HT) separado, y la hem oxidasa (HO) libera Fe^{2+} del hem. Parte del Fe^{2+} intracelular se convierte en Fe^{3+} y es unido por la ferritina. El resto se une al transportador de Fe^{2+} basolateral (FP), y se transporta hacia el torrente sanguíneo, auxiliado por la hefaestina (HP). En el plasma, el Fe^{3+} está unido a la proteína de transporte de hierro transferrina (TF). (Reproducida, con autorización, de Ganong WF: *Review of Medical Physiology*, 21st ed. McGraw-Hill, 2003.)

CUADRO 50-3 Distribución del hierro en un varón adulto de 70 kg[1]

Transferrina	3 a 4 mg
Hemoglobina en eritrocitos	2 500 mg
En mioglobina y diversas enzimas	300 mg
En reservas (ferritina y hemosiderina)	1 000 mg
Absorción	1 mg/día
Pérdidas	1 mg/día

[1] En una adulta de peso similar, la cantidad en las reservas en general sería menor (100 a 400 mg) y las pérdidas serían mayores (1.5 a 2 mg/día).

Los **enterocitos** en la parte proximal del duodeno se encargan de la absorción del hierro. El hierro que entra en el estado Fe^{3+} se reduce a Fe^{2+} por medio de una **ferrirreductasa** presente en la superficie de los enterocitos (fig. 50-4). La vitamina C en los alimentos también favorece la reducción de hierro férrico a hierro ferroso. La transferencia de hierro desde la superficie apical de los enterocitos hacia su interior se efectúa mediante un **transportador metálico divalente (DMT1)** acoplado al protón. Esta proteína no es específica para el hierro, puesto que puede transportar una amplia variedad de cationes divalentes.

Un péptido recién descubierto (25 aminoácidos, sintetizado por las células hepáticas) designado **hepcidina** parece tener importancia en el metabolismo del hierro. Regula en dirección descendente la absorción intestinal y la transferencia placentaria de hierro, así como la liberación de hierro desde macrófagos, posiblemente por interacción con la ferroportina. Cuando las concentraciones plasmáticas de hierro son altas, la síntesis de hepcidina aumenta; ocurre lo contrario cuando las cifras plasmáticas de hierro son bajas. Quizá desempeñe una función importante en la hemocromatosis hereditaria (véase el caso núm. 10, cap. 54) y en la anemia por deficiencia de hierro que se observa en enfermedades inflamatorias crónicas. Otra proteína recién descubierta llamada **hemojuvelina** tal vez actúa al modular la expresión de hepcidina.

Una vez dentro de un enterocito, el hierro se puede almacenar como **ferritina** o transferir a través de la membrana basolateral hacia el plasma, donde es transportado por la transferrina (véase más adelante). Parece ser que el paso a través de la membrana basolateral se lleva a cabo por otra proteína, la **ferroportina**, la cual puede interactuar con la proteína que contiene cobre **hefaestina**, una proteína similar a la ceruloplasmina (véase más adelante). Se cree que la hefaestina tiene una actividad de ferroxidasa, que es importante en la liberación de hierro desde las células. De esta manera, el Fe^{2+} se convierte de regreso hacia Fe^{3+}, la forma en la cual se transporta en el plasma por medio de la transferrina.

La **regulación general** de la absorción de hierro es compleja, y no se entiende bien; al parecer la **hepcidina** desempeña una función clave. La regulación sucede en el ámbito del enterocito, donde se bloquea la absorción adicional de hierro (probablemente por la hepcidina) si se ha captado una cantidad suficiente (la denominada regulación de la dieta ejercida mediante "bloqueo de la mucosa"). También parece tener capacidad de respuesta al requerimiento general de hierro para la eritropoyesis (regulación eritropoyética). La absorción es excesiva en la hemocromatosis hereditaria (véase el caso núm. 10, cap. 54).

La transferrina transborda hierro hacia sitios donde se necesita

La **transferrina (Tf)** es una β_1-globulina con una masa molecular de aproximadamente 76 kDa. Es una glucoproteína, y se sintetiza en el hígado. Se han encontrado alrededor de 20 formas polimórficas de transferrina. Desempeña una función esencial en el metabolismo del hierro en el cuerpo porque transporta hierro (2 mol de Fe^{3+} por cada mol de Tf) en la circulación hacia sitios donde se requiere hierro, por ejemplo, desde el intestino hacia la médula ósea y otros órganos. Cada día se catabolizan aproximadamente 200 mil millones de eritrocitos (alrededor de 20 ml), y liberan unos 25 mg de hierro hacia el organismo —la mayor parte del cual será transportado por la transferrina.

Hay **receptores** para la transferrina (**TfR1** y **TfR2**) sobre la superficie de muchas células. Se une a estos receptores y se internaliza por medio de endocitosis mediada por receptor (compárese con el destino de la LDL; cap. 25). El pH ácido dentro del lisosoma hace que el hierro se disocie de la proteína. El hierro disociado abandona el endosoma mediante el transportador de metal divalente 1 (DMT1) para entrar en el citoplasma. Al contrario del componente proteínico de la LDL, la apoTf no se degrada dentro del lisosoma. En lugar de eso, permanece asociada con su receptor, regresa a la membrana plasmática, se disocia de su receptor, vuelve a entrar en el plasma, capta más hierro, y de nuevo lleva este último hacia las células que lo necesitan. En circunstancias normales, el hierro unido a Tf se recambia 10 a 20 veces al día.

En los **trastornos congénitos de la glucosilación** y en el **abuso crónico del consumo de alcohol** ocurren anormalidades de la glucosilación de la transferrina (cap. 47). Su detección por medio de enfoque isoeléctrico, por ejemplo, se usa para ayudar al diagnóstico de estas enfermedades.

La anemia por deficiencia de hierro es en extremo prevaleciente

La atención al metabolismo del hierro tiene **especial importancia** en **mujeres** por el motivo mencionado. Además, en el **embarazo** es necesario tener en mente el feto en crecimiento. Las **personas de edad avanzada** con malos hábitos dietéticos ("té y pan tostado") pueden presentar deficiencia de hierro. La anemia por deficiencia de hierro debida a ingestión inadecuada, utilización inapropiada, o pérdida excesiva de hierro es una de las enfermedades más prevalecientes que se observan en el ejercicio de la medicina.

La concentración de transferrina en el plasma es de alrededor de 300 mg/dl. Esta cantidad de transferrina puede unirse a 300 μg de hierro por decilitro, de modo que representa la **capacidad total de unión a hierro** del plasma. Aun así, en circunstancias normales únicamente una tercera parte de la proteína está saturada con hierro. En la **anemia por deficiencia de hierro**, la proteína está aún menos saturada con hierro, mientras que en condiciones de almacenamiento excesivo de hierro en el cuerpo (p. ej., hemocromatosis) la saturación con hierro es de mucho más de un tercio.

La ferritina almacena hierro en las células

La **ferritina** es otra proteína importante en el metabolismo del hierro. En circunstancias normales, almacena hierro al cual puede

recurrirse para uso a medida que las circunstancias lo requieren. En estados de hierro excesivo (p. ej., hemocromatosis), hay gran incremento de las reservas corporales de hierro, y mucha más ferritina en los tejidos, como el hígado y el bazo. La ferritina contiene aproximadamente 23% de hierro, y la **apoferritina** (la porción proteínica libre de hierro) tiene una masa molecular de alrededor de 440 kDa. La ferritina está compuesta de 24 subunidades de 18.5 kDa, que encierran en una forma micelar aproximadamente 3 000 a 4 500 átomos férricos. En circunstancias normales hay poca ferritina en el plasma humano. Como quiera que sea, en pacientes con hierro excesivo, la cantidad de ferritina en el plasma es notoriamente alta. Esta última puede medirse de manera conveniente mediante una radioinmunovaloración sensible y específica, y sirve como un índice de las reservas corporales de hierro.

La síntesis del **receptor de transferrina (TfR)** y la de **ferritina** están enlazadas de modo recíproco al contenido celular de hierro. Cuando las cifras de hierro son altas, se sintetiza ferritina para almacenar hierro, y no se necesita captación adicional de este último, de manera que no se sintetiza el TfR. Por el contrario, cuando las concentraciones de hierro son bajas, no se sintetiza ferritina, y se sintetiza el TfR con el fin de promover la captación de hierro a partir de la transferrina. Los mecanismos involucrados se han estudiado con detalle. Diferentes secuencias no traducidas de los mRNA para ambas proteínas (designadas **elementos de respuesta al hierro**, **IRE**) interactúan con una proteína citosólica sensible a variaciones de las cifras de hierro celular **(proteína de unión a IRE**, **IRE-BP**) (fig. 50-5).

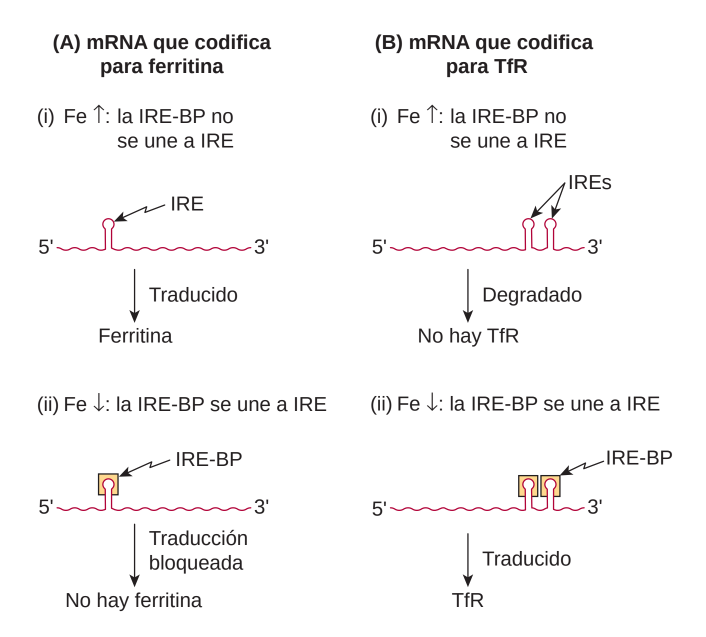


FIGURA 50–5 Representación esquemática de la relación recíproca entre la síntesis de ferritina y el receptor de transferrina (TfR). El mRNA que codifica para ferritina está representado a la izquierda del diagrama, y el que codifica para TfR, a la derecha. A concentraciones altas de hierro, el hierro unido a la IRE-BP evita que la proteína se una a los IRE en uno u otro tipo de mRNA. En esas circunstancias puede traducirse el mRNA que codifica para ferritina, y se sintetiza ésta. Por otra parte, cuando la IRE-BP es incapaz de unirse al IRE en el mRNA para TfR, ese mRNA se degrada. En contraste, a cifras bajas de hierro, la IRE-BP tiene la capacidad de unirse a los IRE en ambos tipos de mRNA. En el caso del mRNA que codifica para ferritina, esto impide que se traduzca, y al parecer se almacena. En el caso del mRNA para TfR, la unión de la IRE-BP evita que el mRNA se degrade, se traduce y se sintetiza TfR.

Los IRE forman asas horquilla en diferentes partes de los dos mRNA. Cuando las **concentraciones de hierro son altas** (Ai y Bi en la fig. 50-5), el hierro se une a la IRE-BP como agrupación de 4Fe-4S, que evita la unión de IRE-BP a los IRE en los mRNA respectivos. Así, las células traducen el mRNA que codifica para ferritina almacenado, y sintetizan ferritina, mientras que el mRNA que codifica para TfR se degrada. En contraste, cuando las **cifras de hierro son bajas**, dicho elemento no está unido de modo específico a la IRE-BP, y esta última ahora puede unirse a los IRE. En estas circunstancias, el mRNA que codifica para ferritina al parecer se almacena como una forma inactiva, mientras que el que codifica para TfR se estabiliza de degradación, se traduce, y sucede síntesis aumentada de receptores. De esta manera se satisfacen las necesidades de hierro de la célula. Se trata de un ejemplo importante de control de la expresión de proteínas en el ámbito **traduccional**. Otro aspecto de la IRE-BP es interesante. Cuando las concentraciones de hierro son altas, la proteína actúa como una **aconitasa** citoplásmica (cap. 17); cuando las cifras de hierro disminuyen, la proteína pasa por cambio conformacional extenso, y puede actuar como una IRE-BP.

La **hemosiderina** es una molécula un poco mal definida; parece ser una forma parcialmente degradada de la ferritina, pero que todavía contiene hierro. Puede detectarse por medio de tinciones histológicas (p. ej., azul de Prusia) para hierro, y su presencia se determina en el estudio histológico cuando ocurre almacenamiento excesivo de hierro.

Diversos análisis de laboratorio se usan para valorar el metabolismo del hierro, y muchas proteínas participan en dicho metabolismo

El cuadro 50-4 resume las pruebas de laboratorio útiles en la evaluación de enfermos que tienen anormalidades del metabolismo de hierro, y en el cuadro 50-5 se listan muchas de las proteínas involucradas en el metabolismo del hierro.

La ceruloplasmina se une al cobre, y las concentraciones bajas de esta proteína plasmática muestran vínculo con enfermedad de Wilson

La ceruloplasmina (de alrededor de 160 kDa) es una α_2-globulina. Es de color azul debido a su alto contenido de cobre, y transporta 90% del cobre presente en el plasma. Cada molécula de ceruloplasmina se une a seis átomos de cobre de modo muy estrecho, de

CUADRO 50-4 Pruebas de laboratorio para evaluar a individuos que tienen trastornos del metabolismo del hierro

• Recuento eritrocítico y estimación de la hemoglobina
• Cuantificaciones del hierro plasmático, capacidad total de unión a hierro (TIBC), y porcentaje de saturación de transferrina
• Cuantificación de ferritina en el plasma por medio de radioinmunovaloración
• Tinción de cortes de tejido con azul de Prusia
• Cuantificación de la cantidad de hierro (μg/g) en una biopsia de tejido

CUADRO 50-5 Algunas proteínas involucradas en el metabolismo del hierro

• Ceruloplasmina (actividad de ferroxidasa)
• DMT1
• Ferrirreductasa (citocromo *b* reductasa I)
• Ferritina
• Ferroportina
• Transportador de hem
• Hemojuvelina
• Hepcidina
• Hefaestina
• HFE
• Proteína de unión a elemento con capacidad de respuesta a hierro
• Transferrina
• Receptores de transferrina 1 y 2

Nota: Encontrará más información en cuanto a casi todas estas proteínas en el texto o en el capítulo 54 (caso núm. 10), o puede tener acceso a esta información en línea en la Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM).

manera que el cobre no es fácilmente intercambiable. La **albúmina** transporta el otro ~ 10% del cobre plasmático, pero se une al metal de modo menos estrecho que la ceruloplasmina. De esta manera, la albúmina dona su cobre a los tejidos con mayor facilidad que la ceruloplasmina, y parece tener mayor importancia que esta última en el transporte de cobre en el organismo humano. La ceruloplasmina muestra una actividad de **oxidasa** dependiente de cobre, pero no se ha esclarecido su importancia fisiológica además de la posible participación en la oxidación de Fe^{2+} en la transferrina hacia Fe^{3+}. La cantidad de ceruloplasmina en el plasma está disminuida en presencia de enfermedad del hígado. En particular, se encuentran cifras bajas de ceruloplasmina en la **enfermedad de Wilson** (degeneración hepatolenticular), una enfermedad debida a metabolismo anormal del cobre. Para esclarecer la descripción de la enfermedad de Wilson, primero se considerará el **metabolismo del cobre** en el cuerpo humano, y luego la **enfermedad de Menkes**, otra enfermedad que comprende metabolismo anormal del cobre.

El cobre es un cofactor para ciertas enzimas

El **cobre** es un oligoelemento esencial. Se requiere en la dieta porque es el cofactor metálico para diversas enzimas (cuadro 50-6). El cobre desempeña funciones importantes en la respiración celular (citocromo *c* oxidasa), la homeostasis del hierro (ceruloplasmina), la formación de melanina (tirosinasa), producción de neurotransmisor (diversas enzimas), síntesis de tejido conjuntivo (lisil oxidasa) y protección contra oxidantes (p. ej., superóxido dismutasa). Acepta y dona electrones, y participa en reacciones que incluyen dismutación, hidroxilación y oxigenación. De cualquier modo, el **cobre** excesivo puede originar problemas porque puede oxidar proteínas y lípidos, unirse a ácidos nucleicos, e incrementar la producción de radicales libres. Así, es importante que haya mecanismos que mantengan dentro de límites normales la cantidad de cobre en el organismo. El cuerpo del adulto normal contiene unos 100 mg de cobre, localizado en su mayor parte en el hueso, el hígado, los riñones y el músculo. La

CUADRO 50-6 Algunas enzimas importantes que contienen cobre

• Amina oxidasa
• Superóxido dismutasa dependiente de cobre
• Citocromo oxidasa
• Tirosinasa

ingestión diaria de cobre es de alrededor de 2 a 4 mg; aproximadamente 50% se absorbe en el estómago y en la parte alta del intestino delgado, y el resto se excreta en las heces. El cobre se transporta hacia el hígado **unido a albúmina**, es captado por las células hepáticas, y parte de él se excreta en la bilis. El cobre también abandona el hígado fijo a **ceruloplasmina**, que se sintetiza en ese órgano.

Las concentraciones hísticas de cobre y de algunos otros metales están reguladas en parte mediante metalotioneínas

Las **metalotioneínas** son un grupo de proteínas pequeñas (alrededor de 6.5 kDa), que se encuentran en el citosol de las células, en especial del hígado, los riñones y el intestino. Tienen un alto contenido de cisteína, y pueden **unirse a cobre**, **zinc**, **cadmio** y **mercurio**. Los grupos SH de la cisteína participan en la unión de los metales. La ingestión aguda (p. ej., por medio de inyección) de cobre y de algunos otros metales aumenta la cantidad (inducción) de estas proteínas en los tejidos, al igual que la administración de ciertas hormonas o citocinas. Estas proteínas pueden funcionar para almacenar los metales anteriores en una forma no tóxica, y participan en su metabolismo general en el organismo. El secuestro de cobre también aminora la cantidad de este metal disponible para generar radicales libres.

La enfermedad de Menkes se debe a mutaciones del gen que codifica para una ATPasa tipo P de unión a cobre

La **enfermedad de Menkes** (enfermedad del pelo "ensortijado" o "acerado") es un trastorno del metabolismo del cobre. Está ligada a X; afecta sólo a lactantes varones; afecta el sistema nervioso, el tejido conjuntivo y la vasculatura, y regularmente es mortal durante la lactación. Es importante el diagnóstico temprano, porque las inyecciones de cobre pueden ser eficaces si la enfermedad se trata con prontitud. En 1993 se informó que la base de la enfermedad de Menkes eran mutaciones del gen (el gen *ATP7A*) que codifica para una **ATPasa tipo P de unión a cobre** (la proteína ATP7A). Despierta interés que la enzima mostró similitud estructural con ciertas proteínas de unión a metal en microorganismos. Se cree que esta ATPasa se encarga de dirigir el flujo de salida de cobre desde las células. Cuando queda alterado por mutación, el cobre no se moviliza de manera normal desde el intestino, en el cual se acumula, al igual que en varias otras células y tejidos, de los cuales no puede salir. Pese a la acumulación de cobre, las actividades de muchas enzimas dependientes de cobre están reducidas, quizá debido a un defecto de su incorporación hacia las apoenzimas. El hígado normal expresa muy poco de la ATPasa, lo cual explica la ausencia de afección hepática en la enfermedad de Menkes. Esta investigación condujo a sugerir

que el hígado podría contener una ATPasa de unión a cobre diferente, que podría participar en la causa de la enfermedad de Wilson. Como se describe más adelante, esto resultó ser así.

La enfermedad de Wilson también se debe a mutaciones en un gen que codifica para una ATPasa tipo P de unión a cobre

La **enfermedad de Wilson** es una enfermedad genética en la cual el cobre no se excreta en la bilis y se acumula en el hígado, el cerebro, los riñones y los eritrocitos. Puede considerarse una incapacidad para mantener un balance de cobre cercano a cero, lo que causa **toxicosis por cobre**. El incremento del cobre en las células hepáticas parece inhibir el acoplamiento del mismo a la apoceruloplasmina, y lleva a cifras bajas de ceruloplasmina en el plasma. Conforme se acumula el cobre, pueden sobrevenir anemia hemolítica, hepatopatía crónica (cirrosis, hepatitis), y un síndrome neurológico debido a acumulación de cobre en los ganglios basales y otros centros. Un dato clínico frecuente es el **anillo de Kayser-Fleischer**, un anillo de pigmento de color verde o dorado alrededor de la córnea debido a depósito de cobre en la membrana de Descemet. En el cuadro 50-7 se listan los principales análisis de laboratorio del metabolismo del cobre. Si se sospecha enfermedad de Wilson, debe realizarse **una biopsia hepática**; un valor de cobre en el hígado de más de 250 μg de peso seco, junto con una concentración plasmática de ceruloplasmina de menos de 20 mg/dl, es diagnóstica.

La causa de la enfermedad de Wilson también se reveló en 1993, cuando se reportó que dependía de diversas mutaciones en un gen que codifica para una **ATPasa tipo P de unión a cobre** (proteína ATP7B). Se estima que el gen *(ATP7B)* codifica para una proteína de 1 411 aminoácidos, que es muy homóloga al producto del gen afectado en la enfermedad de Menkes. De un modo que aún no se explica por completo, una ATPasa no funcional suscita excreción defectuosa de cobre hacia la bilis, una disminución de la incorporación de cobre hacia apoceruloplasmina, y la acumulación de cobre en el hígado y después en otros órganos, como el cerebro.

El tratamiento para enfermedad de Wilson consta de una dieta con bajo contenido de cobre, junto con administración de por vida de **penicilamina**, que produce quelación del cobre, se excreta en la orina y, de esta manera, elimina del cuerpo el exceso de este mineral.

Otra enfermedad que comprende la ceruloplasmina es la **aceruloplasminemia**. En este trastorno genético, las cifras de ceruloplasmina son bajas y, por consiguiente, su actividad de ferroxidasa es muy deficiente. Lo anterior da pie a fracaso de la liberación de hierro desde las células y éste se acumula en ciertas células del cerebro, los hepatocitos, y las células de los islotes pancreáticos. Los afectados muestran **signos neurológicos graves** y tienen diabetes mellitus. El uso de un agente quelante o la administración de plasma o concentrado de ceruloplasmina puede resultar beneficioso.

CUADRO 50-7 Principales análisis de laboratorio empleados en la investigación de enfermedades del metabolismo del cobre

Análisis	Rango normal en el adulto
Cobre sérico	10 a 22 μmol/L
Ceruloplasmina	200 a 600 mg/L
Cobre urinario	< 1 μmol/24 h
Cobre hepático	20 a 50 μg/g peso seco

Fuente: Basado en Gaw A *et al*.: *Clinical Biochemistry*. Churchill Livingstone, 1995. Copyright © 1995 Elsevier Ltd. Reimpreso con autorización de Elsevier.

La deficiencia de α_1-antiproteinasa (α_1-antitripsina) se relaciona con enfisema y un tipo de enfermedad del hígado

La **α_1-antiproteinasa** (cerca de 52 kDa) se llamaba α_1-antitripsina, y este nombre se retiene aquí. Es una proteína de una sola cadena, de 394 aminoácidos, que contiene tres cadenas de oligosacárido, y es el principal componente (> 90%) de la fracción α_1 del plasma humano. Se sintetiza en los hepatocitos y macrófagos, y es el principal **inhibidor de la serina proteasa** (**serpina**, o **Pi**) del plasma humano. Inhibe la tripsina, elastasa y algunas otras proteasas al formar complejos con ellas. Hay por lo menos 75 **formas polimórficas**, muchas de las cuales pueden separarse mediante electroforesis. El principal genotipo es el MM, y su producto fenotípico es PiM. Hay dos áreas de interés clínico en cuanto a la α_1-antitripsina. Una deficiencia de esta proteína tiene una participación en ciertos casos (alrededor de 5%) de **enfisema**. Esto sucede principalmente en individuos con el **genotipo ZZ**, que sintetizan PiZ, y en heterocigotos para PiSZ, ambos de los cuales secretan mucho menos proteína que los individuos PiMM. Se secreta una cantidad considerablemente menor de esta proteína en comparación con PiM. Cuando la cantidad de α_1-antitripsina es deficiente y los leucocitos polimorfonucleares aumentan en los pulmones (p. ej., durante neumonía), el individuo afectado carece de un mecanismo para restringir el daño proteolítico de los pulmones por proteasas como la elastasa (fig. 50-6). Despierta considerable interés que una **metionina** particular (residuo 358) de la α-antitripsina participa en su unión a proteasas. El **tabaquismo** oxida esta metionina hacia sulfóxido de metionina y, de este modo, la inactiva. Como resultado, las moléculas afectadas de α_1-antitripsina ya no neutralizan proteasas. Esto es en particular devastador en sujetos (p. ej., fenotipo PiZZ) que ya tienen concentraciones bajas de α_1-antitripsina. El decremento adicional de esta última, desencadenado por fumar, ocasiona destrucción proteolítica incrementada del tejido pulmonar, lo que acelera la aparición de enfisema. La **administración de α_1-antitripsina por vía intravenosa** (terapia de aumento) se ha empleado como un adjunto en el tratamiento de enfisema debido a deficiencia de α_1-antitripsina. Se están haciendo intentos, usando las técnicas de ingeniería de proteínas, por remplazar la metionina 358 por otro residuo que no quedaría sujeto a oxidación. Así, la α_1-antitripsina "mutante" resultante proporcionaría protección contra proteasas durante un periodo mucho más prolongado que la α_1-antitripsina natural. También se está intentando crear **terapia génica** para esta enfermedad. Un método es emplear un adenovirus (un agente patógeno de las vías respiratorias) modificado en el cual se ha insertado el gen que codifica para α_1-antitripsina. A continuación el virus se introduciría en las vías respiratorias (p. ej., por medio de un aerosol), con la esperanza de que las células epiteliales pulmonares expresaran el gen y secretaran α_1-antitripsina localmente. Experimentos en animales han indicado la viabilidad de este método.

La deficiencia de α_1-antitripsina también está implicada en un tipo de **enfermedad del hígado** (hepatopatía por deficiencia de α_1-antitripsina). En esta enfermedad, moléculas del **fenotipo ZZ** se

A. Elastasa activa + α_1–AT → elastasa inactiva: complejo α_1–AT → no hay proteólisis de pulmón → no hay daño de tejido

B. Elastasa activa + α_1–AT ↓ o nula → elastasa activa → proteólisis de pulmón → daño hístico

FIGURA 50-6 Esquema que ilustra: **(A)** la desactivación normal de la elastasa por la α_1-antitripsina, y **(B)** la situación en la cual hay disminución considerable de la cantidad de α_1-antitripsina, lo que causa proteólisis por la elastasa y daño de tejido.

acumulan y se agregan en las cisternas del retículo endoplásmico de los hepatocitos. La agregación se debe a la formación de **polímeros** de α_1-antitripsina mutante; los polímeros se forman por medio de una fuerte interacción entre un asa específica en una molécula y una hoja plegada β prominente en otra (polimerización de asa-hoja). Por mecanismos que no se entienden, sobreviene **hepatitis** con **cirrosis** consiguiente (acumulación de grandes cantidades de colágeno, lo que se traduce en fibrosis). Es posible que la administración de un péptido sintético que semeja la secuencia de asa pudiera inhibir la polimerización de asa-hoja. Las enfermedades como la deficiencia de α_1-antitripsina, en la cual la enfermedad celular es causada principalmente por la presencia de agregados de formas aberrantes de proteínas individuales, se han denominado **enfermedades conformacionales** (cap. 46). Casi todas parecen deberse a la formación de hojas β por proteínas inestables desde el punto de vista conformacional, lo que a su vez lleva a la formación de agregados. Otros miembros de este grupo de enfermedades incluyen la enfermedad de Alzheimer, la de Parkinson y la de Huntington.

Hoy, la enfermedad hepática grave por deficiencia de α_1-antitripsina puede tratarse con buenos resultados mediante **trasplante de hígado**. En el futuro, tal vez se haga posible la introducción del gen que codifica para α_1-antitripsina normal hacia hepatocitos, pero esto no detendría la producción de la proteína PiZ. En la figura 50-7 se presenta un esquema de la causa de esta enfermedad.

La α_2-macroglobulina neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas hacia tejidos

La **α_2-macroglobulina** es una glucoproteína plasmática grande (720 kDa) constituida de cuatro subunidades idénticas de 180 kDa. Comprende 8 a 10% de la proteína plasmática total en seres humanos. Aproximadamente 10% del **zinc** en el plasma se transporta por medio de la α_2-macroglobulina; el resto se transporta mediante la albúmina. La proteína se sintetiza en diversos tipos de célula, entre ellos monocitos, hepatocitos y astrocitos. Es el principal miembro de un grupo de proteínas plasmáticas que incluyen las proteínas del complemento C3 y C4. Estas proteínas contienen un **enlace tiol éster cíclico interno** (formado entre un residuo cisteína y uno glutamina, fig. 50-8) y por esta razón se ha designado la **familia de proteína plasmática tiol éster**. Este enlace es muy reactivo y está involucrado en algunas de las acciones biológicas de la α_2-macroglobulina.

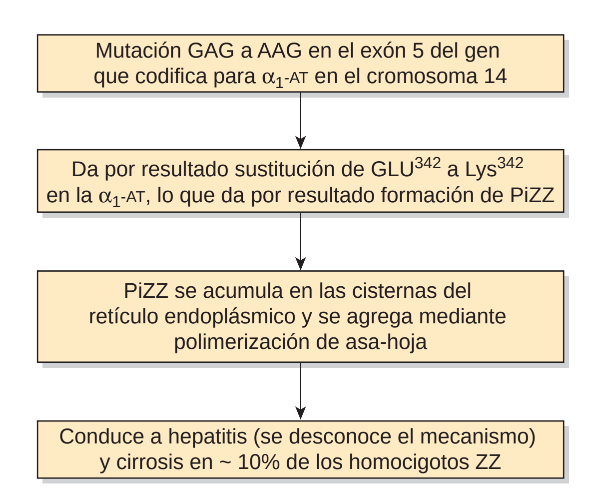


FIGURA 50-7 Esquema de la causa de enfermedad del hígado por deficiencia de α_1-antitripsina. La mutación mostrada causa formación de PiZZ (OMIM 107400). (α_1-AT, α_1-antitripsina.)

FIGURA 50-8 Un enlace tiol éster cíclico interno, como se encuentra en la α_2-macroglobulina. AA_x y AA_y son aminoácidos vecinos para la cisteína y glutamina.

La α_2-macroglobulina se une a muchas proteinasas y, de esta manera, es un importante **inhibidor panproteinasa**. Los complejos de α_2-macroglobulina-proteinasa se eliminan con rapidez del plasma por medio de un receptor localizado en muchos tipos de célula. Más aún, la α_2-macroglobulina se une a muchas **citocinas** (factor de crecimiento derivado de plaquetas, TGF-β, etc.) y parece participar en la dirección de estas últimas hacia tejidos o células particulares. Una vez captadas por las células, las citocinas pueden disociarse de la α_2-macroglobulina, y luego ejercer diversos efectos sobre el crecimiento y la función de la célula. La unión de proteinasas y citocinas por α_2-macroglobulina comprende diferentes mecanismos que no se considerarán aquí.

La amiloidosis ocurre por el depósito de fragmentos de diversas proteínas plasmáticas en los tejidos

La **amiloidosis** es la acumulación de diversas proteínas fibrilares insolubles entre las células de los tejidos hasta un grado que afecta la función. La acumulación por lo general se debe a **incremento de la producción** de ciertas proteínas o **acumulación de formas mutadas** de otras proteínas (véase más adelante). Puede haber afección de uno o más órganos o tejidos, y el cuadro clínico depende de los sitios y la extensión del depósito de fibrillas de amiloide. Las fibrillas por lo general representan fragmentos proteolíticos de diversas pro-

teínas plasmáticas, y poseen una **estructura en hoja plegada β**. El término "amiloidosis" es inadecuado, dado que originalmente se creyó que las fibrillas eran de naturaleza semejante al almidón.

La amiloidosis ahora en general se clasifica como AX, donde A representa amiloidosis y X la proteína en las fibrillas. No obstante, este sistema no se usará aquí. En el cuadro 50-8 se muestra una **clasificación** simple de la amiloidosis. La amiloidosis **primaria** por lo general se debe a un trastorno de células plasmáticas monoclonal en el cual la proteína que se acumula es un fragmento de una **cadena ligera** (véase más adelante) de una inmunoglobulina. La amiloidosis **secundaria** regularmente sucede como consecuencia de infecciones crónicas o cáncer, y se debe a acumulación de productos de degradación de **amiloide sérico A** (SAA). La síntesis aumentada de SAA ocurre en estados inflamatorios crónicos debido a cifras altas de ciertas citocinas inflamatorias que estimulan al hígado para que produzca más de esta proteína. La amiloidosis **familiar** depende de acumulación de formas mutadas de ciertas proteínas plasmáticas, en particular **transtiretina** (cuadro 50-2). Se han documentado más de 80 formas mutadas de esta proteína. Otras proteínas plasmáticas también pueden acumularse en otros tipos raros de amiloidosis familiar. En pacientes que reciben diálisis crónica a largo plazo puede acumularse la proteína plasmática **β_2-microglobulina**, porque las membranas de diálisis la retienen en el plasma. Se cree que la acumulación de una proteína tipo amiloide es un factor crucial en la causa de la enfermedad de Alzheimer (caso 2, cap. 54). En total, al menos 20 proteínas diferentes han quedado implicadas en los distintos tipos de amiloidosis. Aún no se han dilucidado los factores precisos que determinan el depósito de fragmentos proteolíticos en los tejidos. Las fibrillas de amiloide por lo general tienen vinculado un **componente P**, que se deriva del **componente P de amiloide sérico**, una proteína plasmática estrechamente relacionada con la proteína C reactiva. Los cortes de tejido que contienen fibrillas de amiloide interactúan con **colorante rojo Congo** y muestran notoria birrefringencia de color verde cuando se observan mediante microscopia polarizante. El depósito de amiloide sucede en sujetos que tienen diversos trastornos; si es posible, debe proporcionarse **tratamiento del trastorno subyacente**.

En general, los métodos experimentales para el tratamiento de la amiloidosis pueden considerarse bajo tres encabezados: 1) que previenen la producción de la proteína precursora; 2) que estabilizan las estructuras de proteínas precursoras de modo que no se conviertan en estructuras en hoja plegada β, y 3) que desestabilizan fibrillas de amiloide de manera que vuelven a adoptar su conformación normal. Por ejemplo, al considerar el tercer método, varios **ligandos pequeños** se unen con avidez a fibrillas de amiloide. Por ejemplo, la **antraciclina yodada** se une de modo específico y con afinidad alta a todas las fibrillas de amiloide naturales, y promueve su desagregación *in vitro*. Otro método similar ha sido la creación del medicamento **eprodisato**. Las fibrillas de amiloide se unen a glucosaminoglucanos (cap. 48) en los tejidos. El eprodisato se une a los GAG y, de esta manera, altera la unión de las fibrillas a estas moléculas. Se espera que moléculas que afectan cualquiera de los tres procesos que acaban de mencionarse resulten útiles en el tratamiento de la amiloidosis.

CUADRO 50-8 Una clasificación de la amiloidosis

Tipo	Proteína implicada
Primaria	Principalmente cadenas ligeras de inmunoglobulinas
Secundaria	Amiloide sérico A (SAA)
Familiar	Transtiretina; también rara vez apolipoproteína A-1, cistatina C, fibrinógeno, gelsolina, lisozima
Enfermedad de Alzheimer	Péptido amiloide β (cap. 54, caso núm. 2)
Vinculada con diálisis	β_2-microglobulina

Nota: Proteínas que no aparecen en esta lista también han quedado implicadas en la amiloidosis.

LAS INMUNOGLOBULINAS PLASMÁTICAS DESEMPEÑAN UNA FUNCIÓN IMPORTANTE EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL ORGANISMO

El sistema inmunitario del cuerpo consta de tres componentes principales: **linfocitos B**, **linfocitos T** y el **sistema inmunitario innato**. Los linfocitos B se derivan principalmente de las células de la médula ósea en animales superiores, y de la bolsa de Fabricio en aves. Los linfocitos T son de origen tímico. Las **células B** se encargan de las síntesis de anticuerpos humorales circulantes, también conocidos como **inmunoglobulinas**. Las **células T** participan en diversos **procesos inmunitarios mediados por células**, como rechazo de injerto, reacciones de hipersensibilidad, y defensa contra células malignas y muchos virus. El **sistema inmunitario innato** defiende contra infección de un modo inespecífico y, al contrario de las células B y T, es **no adaptativo**. Contiene diversas células, como fagocitos, neutrófilos, células asesinas naturales, y otras. En el caso número 1 en el capítulo 54 se describe una enfermedad en la cual hay una deficiencia genética de células T debido a mutación en el gen que codifica para la adenosina desaminasa. Hay varias otras enfermedades en las cuales **diversos componentes del sistema inmunitario son deficientes debido a mutaciones**. Casi todas éstas se caracterizan por **infecciones recurrentes**, que deben tratarse de manera vigorosa por medio de, por ejemplo, la administración de inmunoglobulinas (si hay deficiencia de éstas) y antibióticos apropiados.

En esta sección sólo se consideran las inmunoglobulinas plasmáticas, que se sintetizan principalmente en las **células plasmáticas**. Éstas son células especializadas de la línea de células B que sintetizan y secretan inmunoglobulinas hacia el plasma en respuesta a exposición a diversos **antígenos**.

Todas las inmunoglobulinas contienen un mínimo de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas

Las **inmunoglobulinas** contienen un mínimo de dos cadenas ligeras (L) idénticas (23 kDa) y dos cadenas pesadas (H) idénticas (53 a 75 kDa), que se mantienen unidas como tetrámero (L_2H_2) mediante enlaces disulfuro. La figura 50-9 muestra la estructura de la IgG; tiene **forma de Y**; la unión de antígeno ocurre en ambos extremos de la Y. Cada cadena puede dividirse en el aspecto conceptual en dominios específicos, o regiones, que tienen importancia estructural y funcional. La mitad de la cadena ligera (L) hacia el carboxilo terminal se llama la **región constante** (C_L), mientras que la mitad amino terminal es la **región variable** de la cadena ligera (V_L).

Alrededor de una cuarta parte de la cadena pesada (H) en los amino terminales se denomina su **región variable** (V_H), y las otras tres cuartas partes de la cadena pesada se designan las **regiones constantes (C_H1, C_H2, C_H3)** de esa cadena H. La porción de la molécula de inmunoglobulina que se une al antígeno específico se forma por medio de las porciones amino terminal (regiones variables) de las cadenas tanto H como L; es decir, los dominios V_H y V_L. Los dominios de las cadenas de proteína constan de dos hojas de tramos de aminoácidos antiparalelos separados, que se unen a antígeno.

La digestión de una inmunoglobulina mediante la enzima **papaína** origina dos fragmentos de unión a antígeno **(Fab)** y un fragmento cristalizable **(Fc)**, que se encarga de funciones de inmunoglobulinas que no son la unión directa de antígenos (fig. 50-9). Puesto que hay dos regiones Fab, las moléculas de IgG se unen a dos moléculas de antígeno, y se llaman **divalentes**. El sitio del antígeno al cual se une un anticuerpo se denomina un **determinante antigénico**, o **epítopo**. El área en la cual la papaína divide la molécula de inmunoglobulina —esto es, la región entre los dominios C_H1 y C_H2— se designa la "**región bisagra**". Esta región confiere **flexibilidad** y permite que ambos extremos Fab se muevan de modo independiente, lo que los ayuda a unirse a sitios antigénicos que pueden estar separados distancias variables (p. ej., sobre superficies bacterianas). Las regiones Fc y bisagra difieren en las diferentes clases de anticuerpos, pero el modelo general de la estructura de anticuerpo para cada clase es similar al que se muestra en la figura 50-9 para la IgG.

Todas las cadenas ligeras son de tipo kappa o lambda

Hay dos tipos generales de cadenas ligeras, **kappa (κ)** y **lambda (λ)**, que pueden distinguirse con base en diferencias estructurales en sus regiones C_L. Una molécula de inmunoglobulina dada siempre contiene dos cadenas ligeras κ o λ, nunca una mezcla de κ y λ. En seres humanos, las cadenas κ son más frecuentes que las λ en moléculas de inmunoglobulina.

Los cinco tipos de cadena pesada determinan la clase de inmunoglobulina

Se han hallado **cinco clases** de cadena H en seres humanos (cuadro 50-9), que se distinguen por diferencias en sus **regiones C_H**. Se llaman λ, α, μ, δ y ε. Cada una de las cadenas μ y ε tienen cuatro dominios C_H en lugar de los tres habituales. El tipo de cadena H determina la clase de inmunoglobulina y, así, su función efectora. De esta manera, hay cinco clases de inmunoglobulinas: **IgG**, **IgA**, **IgM**, **IgD** e **IgE**. En el cuadro 50-10 se resumen las funciones biológicas de estas cinco clases.

No hay dos regiones variables que sean idénticas

Las **regiones variables** de las moléculas de inmunoglobulina constan de los dominios V_L y V_H, y son bastante heterogéneas. De hecho, no se han encontrado dos regiones variables de diferentes seres humanos que tengan secuencias de aminoácidos idénticas. Sin embargo, análisis de aminoácidos han mostrado que las regiones variables constan de **regiones relativamente invariables** y otras **regiones hipervariables** (fig. 50-10). Las cadenas L tienen tres regiones hipervariables (en V_L), y las cadenas H tienen cuatro (en V_H). Estas **regiones hipervariables** comprenden el **sitio de unión a antígeno** (localizado en los extremos de la Y que se muestra en la fig. 50-9) y dictan la asombrosa especificidad de los anticuerpos. Por este motivo, las regiones hipervariables también se denominan regiones **determinantes de la complementariedad (CDR)**. Alrededor de 5 a 10

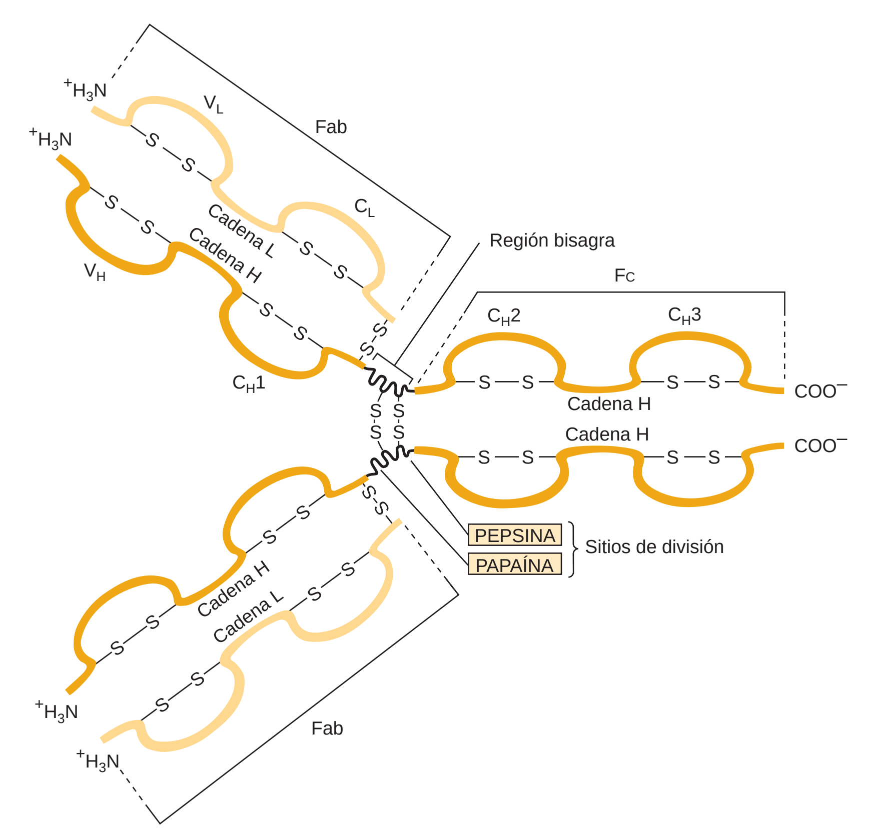


FIGURA 50-9 Estructura de la IgG. La molécula consta de dos cadenas ligeras (L) y dos cadenas pesadas (H). Cada cadena ligera consta de una región variable (V_L) y una región constante (C_L). Cada cadena pesada consta de una región variable (V_H) y una región constante que se divide en tres dominios (C_H1, C_H2 y C_H3). El dominio C_H2 contiene el sitio de unión a complemento, y el dominio C_H3, un sitio que se fija a receptores sobre neutrófilos y macrófagos. El sitio de unión a antígeno está formado por las regiones hipervariables de las cadenas tanto ligera como pesada, que están localizadas en las regiones variables de estas cadenas (fig. 50-10). Las cadenas ligera y pesada están unidas por medio de enlaces disulfuro, y las cadenas pesadas también están enlazadas entre sí mediante dicho tipo de enlaces. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG *et al.* [editores]: *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

CUADRO 50-9 Propiedades de las inmunoglobulinas de ser humano

Propiedad	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Porcentaje de inmunoglobulina total en el suero (aproximado)	75	15	9	0.2	0.004
Concentración sérica (mg/dl) (aproximada)	1 000	200	120	3	0.05
Coeficiente de sedimentación	7S	7S u 11S[1]	19S	7S	8S
Peso molecular (× 1 000)	150	170 o 400[1]	900	180	190
Estructura	Monómero	Monómero o dímero	Monómero o dímero	Monómero	Monómero
Símbolo de cadena H	γ	Α	μ	δ	ε
Fijación de complemento	+	—	+	—	—
Paso transplacentario	+	—	—	?	—
Mediación de respuestas alérgicas	—	—	—	—	+
Se encuentra en secreciones	—	+	—	—	—
Opsonización	+	—	—[2]	—	—
Receptor de antígeno sobre célula B	—	—	+	?	—
La forma polimérica contiene cadena J	—	+	+	—	—

Fuente: Reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology,* 7th ed. McGraw-Hill, 2002.
[1]La forma 11S se encuentra en secreciones (p. ej., saliva, leche, lágrimas) y líquidos de las vías respiratorias, el tubo digestivo y las vías genitales.
[2]IgM opsoniza de manera indirecta al activar el complemento. Esto produce C3b, que es una opsonina.

CUADRO 50-10 Principales funciones de las inmunoglobulinas

Inmunoglobulina	Principales funciones
IgG	Principal anticuerpo en la respuesta secundaria. Opsoniza bacterias, lo que hace que sean más fáciles de fagocitar. Fija complemento, que incrementa la muerte de bacterias. Neutraliza toxinas bacterianas y virus. Cruza la placenta.
IgA	La IgA secretoria impide la fijación de bacterias y virus a mucosas. No fija complemento.
IgM	Se produce en la respuesta primaria a un antígeno. Fija complemento. No cruza la placenta. Receptor de antígeno sobre la superficie de células B.
IgD	Se encuentra en la superficie de células B, donde actúa como un receptor para antígeno.
IgE	Media hipersensibilidad inmediata al suscitar liberación de mediadores desde las células cebadas y los basófilos en el momento de exposición a antígeno (alergeno). Defiende contra infecciones por gusanos al causar liberación de enzimas a partir de los eosinófilos. No fija el complemento. Principal defensa del huésped contra infecciones por helmintos.

Fuente: Reproducido, con autorización, de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology and Immunology,* 7th ed. McGraw-Hill, 2002.

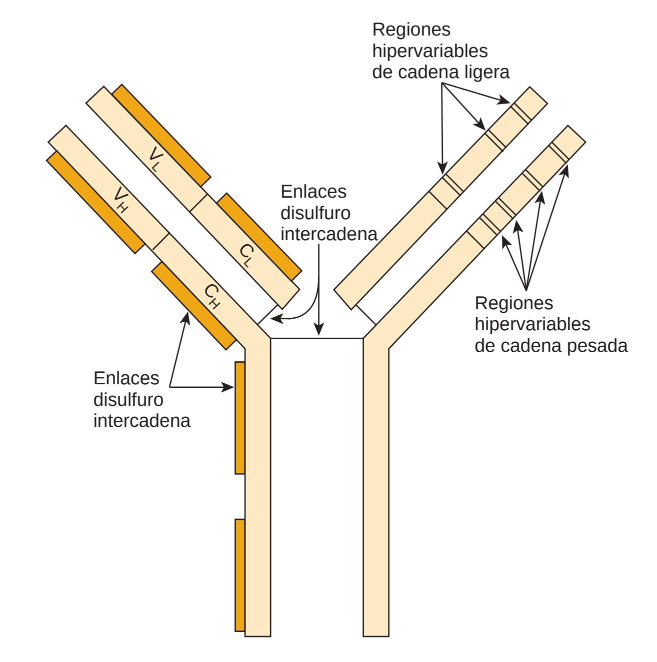


FIGURA 50-10 Modelo esquemático de una molécula de IgG que muestra las posiciones aproximadas de las regiones hipervariables en las cadenas pesada y ligera. El sitio de unión a antígeno está formado por estas regiones hipervariables. Las regiones hipervariables también se llaman regiones determinantes de la complementariedad (CDR). (Modificada y reproducida, con autorización, de Parslow TG *et al.* [editores]: *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

aminoácidos en cada región hipervariable (CDR) contribuyen al sitio de unión a antígeno. Las CDR están localizadas en asas pequeñas de los dominios variables; las regiones polipeptídicas circundantes entre las regiones hipervariables se designan **regiones armazón**. Las CDR de los dominios tanto V_H como V_L, unidas por medio de plegado de las cadenas polipeptídicas en las cuales están contenidas,

forman una superficie hipervariable única que incluye el **sitio de unión a antígeno**. Diversas combinaciones de CDR de cadena H y L pueden dar lugar a muchos anticuerpos de especificidades diferentes, característica que contribuye a la tremenda diversidad de las moléculas de anticuerpo, y se llama **diversidad combinacional**. Los antígenos grandes interactúan con todas las CDR de un anticuerpo, mientras que los ligandos pequeños quizá interactúan con sólo una o algunas CDR que forman una bolsa o surco en la molécula de anticuerpo. La esencia de las interacciones antígeno-anticuerpo es la **complementariedad mutua** entre las superficies de CDR y epítopos. Las interacciones entre anticuerpos y antígenos comprenden **fuerzas y enlaces no covalentes** (fuerzas electrostáticas y de van der Waals, y enlaces de hidrógeno e hidrofóbicos).

Las regiones constantes determinan las funciones efectoras específicas para clase

Las **regiones constantes** de las moléculas de inmunoglobulina, en especial la C_H2 y C_H3 (y C_H4 de IgM e IgE), que constituyen el fragmento Fc, se encargan de las **funciones efectoras específicas para clase** de las diferentes moléculas de inmunoglobulina (cuadro 50-9, parte inferior), p. ej., la fijación de complemento o paso transplacentario.

Algunas inmunoglobulinas como la IgG inmune únicamente existen en la estructura tetramérica básica, mientras que otras, como la IgA y la IgM, pueden existir en polímeros de orden superior de dos, tres (IgA), o cinco (IgM) unidades tetraméricas (fig. 50-11).

Las cadenas L y H se sintetizan como moléculas separadas, y después se montan dentro de la célula B o la célula plasmática hacia moléculas de inmunoglobulina maduras, todas las cuales son **glucoproteínas**.

Las cadenas tanto ligera como pesada son productos de múltiples genes

Cada **cadena ligera** de inmunoglobulina es el producto de por lo menos tres genes estructurales separados: un gen que codifica para la **región variable (V_L)**, uno que codifica para la **región de unión (*J*)** (que no tiene vínculo con la cadena J de la IgA o la IgM), y uno que codifica para la **región constante (C_L)**. Cada **cadena pesada** es el producto de al menos **cuatro** genes diferentes: un gen que codifica para la **región variable (V_H)**, uno que codifica para la **región de diversidad (*D*)**, uno que codifica para la **región de unión (*J*)**, y uno que codifica para la **región constante (C_H)**. De este modo, el concepto de "un gen, una proteína" no es válido. En los capítulos 35 y 38 se comentan los mecanismos moleculares de los cuales depende la

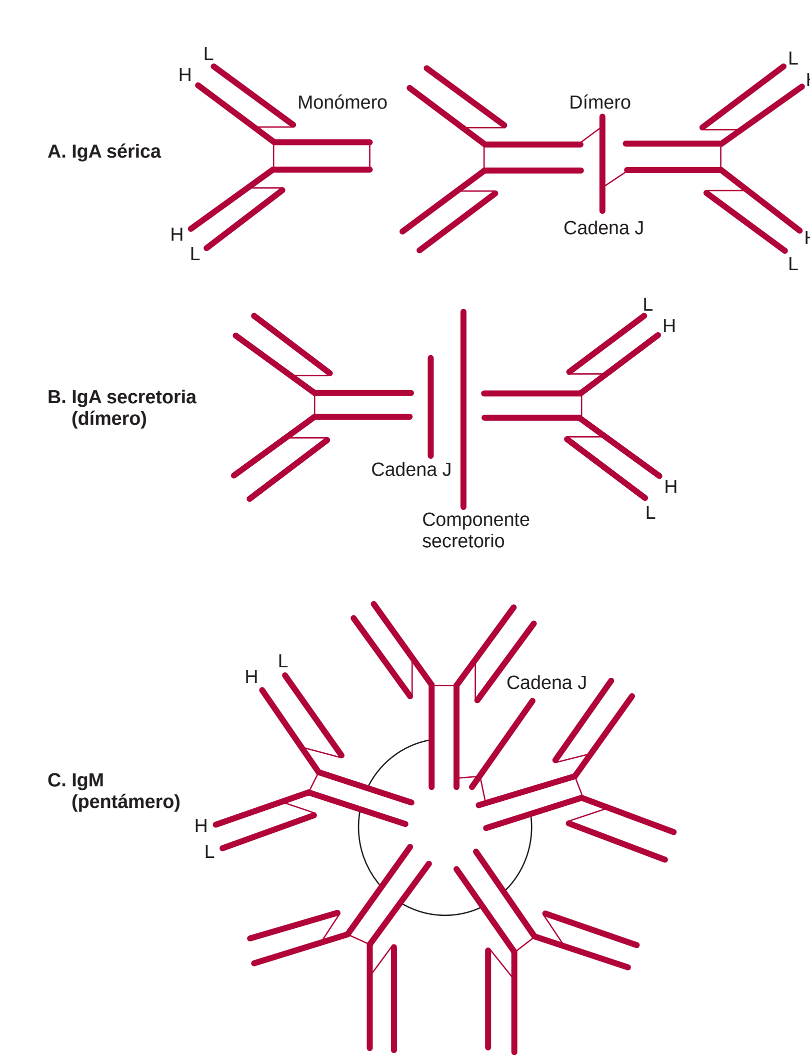


FIGURA 50-11 Representación esquemática de la IgA sérica, IgA secretoria e IgM. Tanto la IgA como la IgM muestran una cadena J, pero únicamente la IgA secretoria tiene un componente secretorio. Las líneas gruesas representan cadenas polipeptídicas; las líneas delgadas representan enlaces disulfuro que unen diferentes cadenas polipeptídicas. (Reproducida, con autorización, de Parslow TG *et al.* [editores]: *Medical Immunology,* 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

generación de las cadenas de inmunoglobulina únicas a partir de múltiples genes estructurales.

La diversidad de anticuerpos depende de reordenamientos de gen

Cada persona tiene la capacidad de generar anticuerpos dirigidos contra tal vez un millón de diferentes antígenos. La generación de esa inmensa **diversidad de anticuerpos** depende de diversos factores, entre ellos la existencia de múltiples segmentos de gen (segmentos V, C, J y D), sus recombinaciones (caps. 35 y 38), las combinaciones de diferentes cadenas L y H, una frecuencia alta de mutaciones somáticas en genes que codifican para inmunoglobulina, y **diversidad de unión**. Esta última refleja la adición o deleción de un número al azar de nucleótidos cuando ciertos segmentos de gen se unen entre sí, e introducen un grado adicional de diversidad. Así, los factores anteriores aseguran que puede sintetizarse **un vasto número de anticuerpos** a partir de varios cientos de segmentos de gen.

El cambio de clase (isotipo) sucede durante respuestas inmunitarias

En casi todas las respuestas inmunitarias humorales se generan anticuerpos con especificidad idéntica pero de diferentes clases en un orden cronológico específico en respuesta al inmunógeno (antígeno inmunizante). Por ejemplo, los anticuerpos de la clase IgM normalmente preceden a las moléculas de la clase IgG. El cambio desde una clase hacia otra se denomina **"cambio de clase o isotipo"**, y su base molecular se ha investigado extensamente. Un tipo único de cadena ligera de inmunoglobulina puede combinarse con una cadena μ específica para antígeno para generar una molécula de IgM específica. Después, la misma cadena ligera específica para antígeno se combina con una cadena γ que tiene una región V_H idéntica para generar una molécula de IgG con especificidad para antígeno idéntica a la de la molécula de IgM original. La misma cadena ligera también puede combinarse con una cadena pesada α, que de nuevo contiene la región V_H idéntica, para formar una molécula de IgA con especificidad de antígeno idéntica. Estas tres clases (IgM, IgG e IgA) de moléculas de inmunoglobulina contra el mismo antígeno tienen **dominios variables idénticos** en sus cadenas ligeras (V_L) y pesadas (V_H), y se dice que comparten un **idiotipo**. (Los idiotipos son los determinantes antigénicos formados por los aminoácidos específicos en las regiones hipervariables.) Así, las **diferentes clases** de estas tres inmunoglobulinas (designadas **isotipos**) están determinadas por sus regiones **C_H diferentes**, que se combinan con las mismas regiones V_H específicas para antígeno.

La producción tanto excesiva como insuficiente de inmunoglobulinas puede causar estados morbosos

Los trastornos de las inmunoglobulinas incluyen **incremento de la producción** de clases específicas de inmunoglobulinas o incluso moléculas de inmunoglobulina específicas, estas últimas por tumores clonales de células plasmáticas llamados mielomas. El **mieloma múltiple** es una enfermedad neoplásica; la electroforesis del suero o la orina por lo general revelará gran aumento de una inmunoglobulina particular o una cadena ligera particular (esta última denominada una proteína de Bence Jones). La **producción disminuida** puede restringirse a una clase única de moléculas de inmunoglobulina (p. ej., IgA o IgG), o comprender producción insuficiente de todas las clases de inmunoglobulinas (IgA, IgD, IgE, IgG e IgM). Una reducción grave de la síntesis de una clase de inmunoglobulina debido a una anormalidad genética puede suscitar una seria enfermedad de inmunodeficiencia —p. ej., **agammaglobulinemia**, en la cual la producción de IgG está notoriamente afectada— debido a deterioro de la defensa del organismo contra microorganismos.

Los hibridomas proporcionan fuentes a largo plazo de anticuerpos monoclonales muy útiles

Cuando se inyecta un antígeno en un animal, los anticuerpos resultantes son **policlonales**, que son sintetizados por una mezcla de células B. Los anticuerpos policlonales se dirigen contra varios sitios diferentes (epítopos o determinantes) en el antígeno y, de este modo, son **no monoespecíficos**. Empero, mediante un método creado por Kohler y Milstein, pueden obtenerse cantidades casi ilimitadas de un anticuerpo monoclonal único específico para un epítopo.

El método incluye **fusión celular**, y la línea celular permanente resultante se designa un **hibridoma**. Típicamente, se obtienen células B del bazo de un ratón (u otro animal idóneo) en el cual previamente se inyectó un antígeno o una mezcla de antígenos (p. ej., células extrañas). Las células B se mezclan con **células de mieloma** de ratón y se exponen a polietilenglicol, que produce fusión celular. En la figura 50-12 se resumen los principios involucrados en la generación de células de hibridoma. Bajo las condiciones empleadas, sólo las células de hibridoma se multiplican en cultivo de células. Esto comprende colocar las células híbridas en placas en un medio que contiene hipoxantina-aminopterina-timidina (HAT) a una concentración tal que cada plato contiene aproximadamente una célula. Así, una **clona** de células de hibridoma se multiplica en cada plato. El medio de cultivo se recolecta y se investiga para anticuerpos que reaccionan con el antígeno o los antígenos originales. Si el inmunógeno es una mezcla de muchos antígenos (p. ej., una preparación de membrana celular), un plato de cultivo individual contendrá una clona de células de hibridoma que sintetizan un anticuerpo monoclonal contra un determinante antigénico específico de la mezcla. Al recolectar los medios de muchos platos de cultivo, puede obtenerse una batería de anticuerpos monoclonales, muchos de los cuales son específicos para componentes individuales de la mezcla inmunogénica. Las células de hibridoma se pueden congelar y almacenar, y después deshelar cuando se necesita más del anticuerpo; esto asegura su abasto a largo plazo. Las células de hibridoma también se pueden cultivar en el abdomen de ratones, lo que proporciona aportes relativamente grandes de anticuerpos. Se está intentando producir anticuerpos monoclonales **humanos**.

Debido a su **especificidad**, los anticuerpos monoclonales se han convertido en **reactivos útiles** en extremo en muchas áreas de la biología y la medicina. Por ejemplo, pueden usarse para medir las cantidades de muchas proteínas individuales (p. ej., proteínas plasmáticas) para determinar la naturaleza de agentes infecciosos (p. ej., tipos de bacterias), y para subclasificar células tanto normales (p. ej., linfocitos) como tumorales (p. ej., células leucémicas).

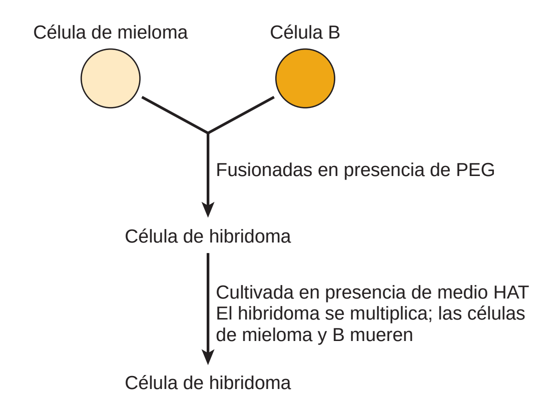


FIGURA 50-12 Esquema de la producción de una célula de hibridoma. Las células de mieloma están inmortalizadas, no producen anticuerpos, y son HGPRT⁻ (lo que hace inactiva la vía de salvamento de síntesis de purina [cap. 33]). Las células B no están inmortalizadas, cada una produce un anticuerpo específico, y son HGPRT⁺. El polietilén glicol (PEG) estimula la fusión celular. Las células de hibridoma resultantes están inmortalizadas (mediante las células de mieloma originales), producen anticuerpos, y son HGPRT⁺ (estas dos últimas propiedades se adquieren a partir de las células B originales). Las células B morirán en el medio porque no están inmortalizadas. En presencia de HAT, las células de mieloma también morirán, dado que la aminopterina en la HAT suprime la síntesis de purina por medio de la vía *de novo* al inhibir la reutilización de tetrahidrofolato (cap. 33). Con todo, las células de hibridoma sobrevivirán, crecerán (porque son HGPRT⁺) y —si se clonan— producirán anticuerpo monoclonal. (HAT, hipoxantina, aminopterina y timidina; HGPRT, hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa.)

Además, se están empleando para dirigir agentes terapéuticos hacia células tumorales y para acelerar la eliminación de fármacos de la circulación cuando alcanzan cifras tóxicas (p. ej., digoxina).

Para **uso terapéutico en seres humanos**, anticuerpos monoclonales hechos en ratones se pueden **humanizar**. Esto puede lograrse al fijar las regiones determinantes de complementariedad (CDR) (los sitios que se unen a antígenos) en sitios apropiados en una molécula de inmunoglobulina de ser humano. Esto produce un anticuerpo que es muy similar a un anticuerpo de ser humano, lo que **disminuye la inmunogenicidad**, y las probabilidades de una reacción anafiláctica, de manera notoria.

El sistema de complemento incluye alrededor de 20 proteínas plasmáticas, y participa en la lisis celular, la inflamación y otros procesos

El plasma contiene aproximadamente 20 proteínas que son miembros del **sistema de complemento**. Este sistema se descubrió cuando se observó que la adición de suero fresco que contenía anticuerpos dirigidos contra una bacteria causaba su **lisis**. A diferencia de los anticuerpos, el factor fue **lábil** cuando se calentó a 56°C. La investigación subsiguiente ha definido las proteínas del sistema y cómo funcionan; casi todas se han clonado y secuenciado. El sistema de complemento está involucrado en la capacidad para **lisar** diversas células, pero también en aspectos de la **inflamación** (p. ej., quimiotaxis y fagocitosis), y en la **eliminación de complejos de antígeno-anticuerpo** de la circulación. Las deficiencias de diversos componentes del sistema debidas a mutaciones dan por resultado **trastornos de deficiencia del complemento**. Los detalles de este sistema son relativamente complejos, y debe consultarse un libro de inmunología. El concepto básico es que las **proteínas normalmente inactivas** del sistema, cuando quedan expuestas a un estímulo, se **activan por proteólisis** e interactúan en una secuencia específica con una o más de las otras proteínas del sistema. Esto origina **lisis celular** y generación de **fragmentos de péptido o de polipéptido** que participan en aspectos de la inflamación. El sistema de complemento semeja la coagulación de la sangre (cap. 51) por cuanto comprende tanto conversión **de precursores inactivos en productos activos por medio de proteasas**, como una **cascada con amplificación**.

RESUMEN

- El plasma contiene muchas proteínas con diversas funciones. Casi todas se sintetizan en el hígado y están glucosiladas.
- La albúmina, que no está glucosilada, es la principal proteína, y es el más importante determinante de la presión osmótica intravascular; también se une a muchos ligandos, como medicamentos y bilirrubina.
- La haptoglobina se une a la hemoglobina extracorpuscular, impide su pérdida hacia los riñones y la orina, y, por tanto, preserva su hierro para reutilización.
- La transferrina se une al hierro, y lo transporta hacia sitios donde se requiere. La ferritina proporciona una reserva intracelular de hierro. La anemia por deficiencia de hierro es un trastorno muy prevaleciente. La hemocromatosis hereditaria es una enfermedad genética que incluye absorción excesiva de hierro (cap. 54, caso 10). Se dispone de varias pruebas de laboratorio para evaluar el estado del cuerpo humano respecto a hierro (p. ej., exceso o deficiencia), y muchas proteínas diferentes están involucradas en distintos aspectos de su metabolismo.
- La ceruloplasmina contiene cantidades considerables de cobre, pero la albúmina parece ser más importante respecto a su transporte. Se ha hallado que las enfermedades tanto de Wilson como de Menkes, que reflejan anormalidades del metabolismo del cobre, se deben a mutaciones en genes que codifican para ATPasas tipo P de unión a cobre.
- La α_1-antitripsina es el principal inhibidor de serina proteasa del plasma; inhibe en particular la elastasa de los neutrófilos. La deficiencia genética de esta proteína es una causa de enfisema, y puede llevar también a enfermedad del hígado.
- La α_2-macroglobulina es una importante proteína plasmática que neutraliza muchas proteasas y dirige ciertas citocinas hacia órganos específicos.
- Las inmunoglobulinas desempeñan una función en los mecanismos de defensa del organismo, al igual que las proteínas del sistema de complemento. Se describen algunas de las principales características de estas proteínas.

REFERENCIAS

Adamson JW: Iron deficiency and other hypoproliferative anemias, Chapter 98. In: Fauci AS et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008.

Adamson JW, Longo DL: Anemia and polycythemia, Chapter 58. In: Fauci AS et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008.

Chua AC, Graham RM, Trinder D, Olnyk JK: The regulation of cellular iron metabolism. Crit Rev Clin Lab Sci 2007;44:413.

Craig WY, Ledue TB, Ritchie RF: *Plasma Proteins: Clinical Utility and Interpretation*. Foundation for Blood Research, 2008.

Haynes BF, Soderberg KA, Fauci AS: Introduction to the immune system, Chapter 308. In: Fauci AS et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008.

Higgins T, Beutler E, Doumas BT: Hemoglobin, iron, and bilirubin, Chapter 31. In: Burtis CA, Ashwood EA, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics,* 4th ed. Elsevier Saunders, 2006.

Janeway CA Jr et al: *Immunobiology,* 6th ed. Garland Science Publishing, 2005.

Johnson AM et al: Amino acids, peptides, and proteins, Chapter 20. In: Burtis CA, Ashwood EA, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. Elsevier Saunders, 2006. (Includes discussions of plasma proteins, complement proteins and immunoglobulins; C-reactive protein is discussed in Chapter 26 of the same text.)

Levinson W: *Review of Medical Microbiology and Immunology,* 10th ed. Appleton & Lange, 2008.

Rajkumar SV, Gertz MA: Advances in the treatment of amyloidosis. N Engl J Med 356:2423, 2007.

Schaller H, Gerber S, Kaempfer U et al: *Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function*. Wiley, 2008.

Tall AR: C-reactive protein reassessed. N Engl J Med 2004;350:1450.

CAPÍTULO

51

Hemostasia y trombosis

Peter L. Gross, MD, Robert K. Murray, MD, PhD
y Margaret L. Rand, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

En este capítulo se describen los aspectos básicos de las proteínas del sistema de coagulación de la sangre y de la fibrinólisis. También se presentan algunos aspectos fundamentales de las características biológicas de las plaquetas. Los estados hemorrágicos y trombóticos pueden causar serias urgencias médicas, y las trombosis en las arterias coronarias y cerebrales son causas importantes de muerte en muchas partes del mundo. El manejo racional de estas enfermedades requiere un entendimiento claro de las bases de la coagulación de la sangre, la fibrinólisis y la agregación plaquetaria.

LA HEMOSTASIA Y LA TROMBOSIS TIENEN TRES FASES EN COMÚN

La hemostasia es el cese de la hemorragia por un vaso cortado o roto, mientras que la trombosis ocurre cuando el endotelio que reviste a los vasos sanguíneos se daña o elimina (p. ej., en el momento de la rotura de una placa aterosclerótica). Estos procesos abarcan la formación de un coágulo de sangre (coagulación) y comprenden vasos sanguíneos, agregación plaquetaria y proteínas plasmáticas que causan la formación o disolución de agregados plaquetarios.

En la hemostasia hay vasoconstricción inicial del vaso lesionado, lo que causa flujo sanguíneo disminuido en posición distal a la lesión. Entonces la hemostasia y la trombosis comparten tres fases:

1. Formación de un agregado plaquetario laxo y temporal en el sitio de la lesión. Las plaquetas se unen al colágeno en el sitio de la lesión de la pared del vaso, y forman tromboxano A_2, y liberan ADP, que activa otras plaquetas que fluyen en la vecindad de la lesión. (El mecanismo de activación plaquetaria se describe más adelante.) La trombina, que se forma durante coagulación en el mismo sitio, causa más activación plaquetaria. En el momento de la activación, las plaquetas cambian de forma y, en presencia de fibrinógeno, se agregan para formar el tapón hemostático (en la hemostasia) o un trombo (en la trombosis).
2. Formación de una red de fibrina que se une al agregado plaquetario, y forma un tapón hemostático más estable o trombo.
3. Disolución parcial o completa del tapón hemostático o trombo por la plasmina.

Hay tres tipos de trombos

Se distinguen tres tipos de trombos o coágulos. Los tres contienen **fibrina** en diversas proporciones.

1. El trombo **blanco** está compuesto de plaquetas y fibrina, y tiene contenido relativamente bajo de eritrocitos. Se forma en el sitio de una lesión o pared de vaso anormal, particularmente en áreas donde el flujo sanguíneo es rápido (arterias).
2. El trombo **rojo** consta principalmente de eritrocitos y fibrina. Semeja desde el punto de vista morfológico el coágulo formado en un tubo de ensayo, y puede formarse *in vivo* en áreas de flujo sanguíneo retardado o estasis (p. ej., venas) con lesión vascular o sin ella, o en un sitio de lesión o en un vaso anormal conjuntamente con un tapón plaquetario iniciador.
3. Un tercer tipo es un **depósito de fibrina** diseminado en vasos sanguíneos de calibre muy pequeño o capilares.

Primero se describirá la vía de la coagulación que lleva a la formación de fibrina. Después se describirán brevemente algunos aspectos de la participación de las plaquetas y de las paredes de los vasos sanguíneos en el proceso general. Esta separación de factores de la coagulación y plaquetas es artificial, puesto que ambos desempeñan funciones íntimas y a menudo interdependientes en la hemostasia y la trombosis, pero facilita la descripción de los procesos generales involucrados.

Las vías tanto extrínseca como intrínseca dan por resultado la formación de fibrina

Dos vías llevan a la formación de coágulo de fibrina: las vías extrínseca e intrínseca. Estas vías no son independientes como se creía. Sin embargo, en el texto que sigue se retiene esta distinción artificial para facilitar su descripción.

El inicio del coágulo de fibrina en respuesta a lesión de tejido se lleva a cabo mediante la vía extrínseca. La vía intrínseca es activada por superficies con carga negativa *in vitro*, por ejemplo, vidrio. Ambas vías llevan a la activación de protrombina hacia trombina, y la división, catalizada por trombina, del fibrinógeno, para formar el coágulo de fibrina. Las vías son complejas y comprenden muchas proteínas diferentes (figs. 51-1 y 51-2; cuadro 51-1). En general,

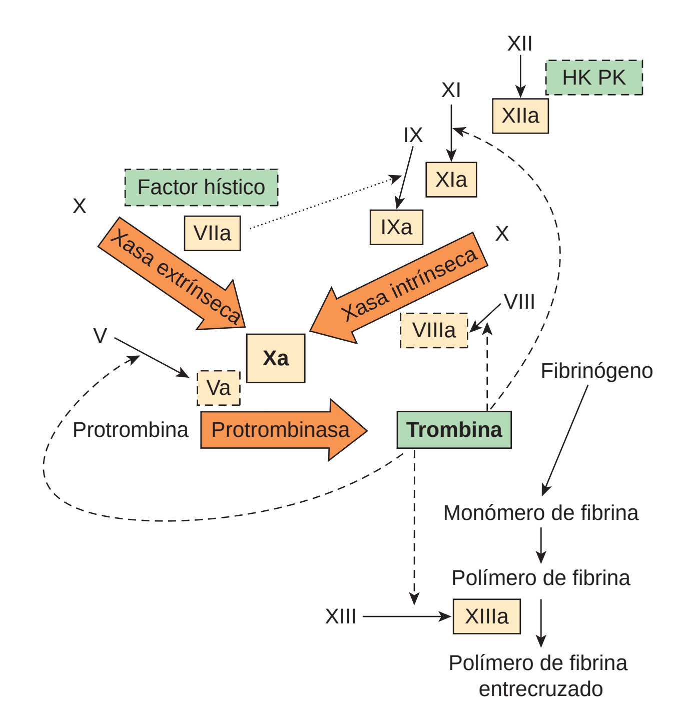


FIGURA 51-1 Las vías de la coagulación de la sangre; la vía extrínseca está indicada en la parte superior izquierda, y la intrínseca, en la superior derecha. Las vías convergen en la activación del factor Xa y culminan con la formación de fibrina con enlaces cruzados. Los complejos de factor hístico y factor VIIa activan no sólo al factor X (Xasa extrínseca [tenasa]), sino también al factor IX en la vía intrínseca (flecha punteada). Además, la retroacción por trombina activa en los sitios indicados (flechas discontinuas); la retroacción por factor Xa activa el factor VII a VIIa (que no se muestra). Los tres complejos predominantes, la Xasa extrínseca, la Xasa intrínseca y la protrombinasa, están indicados en las flechas; las reacciones requieren procoagulante aniónico fosfolípido de membrana y calcio. Las proteasas activadas aparecen en cuadros con contorno continuo; los cofactores activos están en cuadros con contorno discontinuo, y los factores inactivos no están en cuadros. (PK, precalicreína; HK, cininógeno de HMW.)

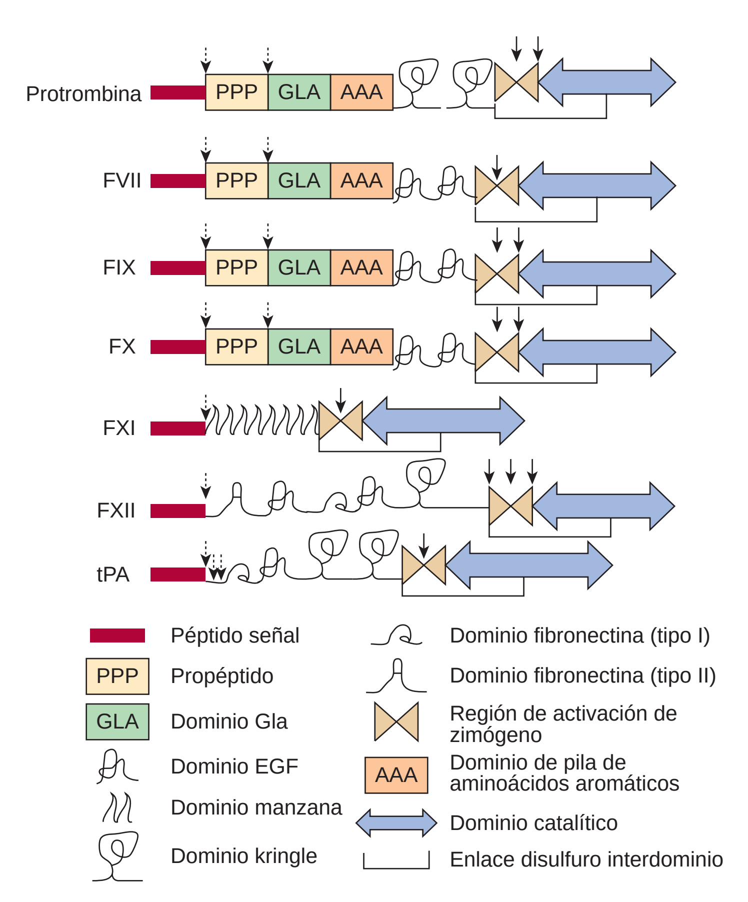


FIGURA 51-2 Los dominios estructurales de proteínas seleccionadas involucradas en la coagulación y la fibrinólisis. Los dominios son como se identifica en la parte inferior de la figura, e incluyen péptido señal, propéptido, dominio de Gla, dominio de factor de crecimiento epidérmico (EGF), dominio manzana, dominio kringle, dominio de fibronectina (tipos I y II), la región de activación de zimógeno, pila de aminoácido aromático, y el dominio catalítico. Los enlaces disulfuro interdominio están indicados, no así muchos enlaces disulfuro intradominio. Los sitios de división proteolítica en la síntesis o activación están indicados por flechas (discontinuas y continuas, respectivamente). FVII, factor VII; FIX, factor IX; FX, factor X, FXI; factor XI; FXII, factor XII; tPA, activador del plasminógeno hístico. (Adaptada, con autorización, de Furie B, Furie BC: The molecular basis of blood coagulation. Cell 1988;53:505.)

estas proteínas pueden clasificarse en cinco tipos (cuadro 51-2): 1) zimógenos de proteasas dependientes de serina, que quedan activados durante el proceso de coagulación; 2) cofactores; 3) fibrinógeno; 4) una transglutaminasa, que estabiliza el coágulo de fibrina, y 5) proteínas reguladoras y de otros tipos.

La vía extrínseca lleva a la activación del factor X

La vía extrínseca comprende el factor hístico, los factores VII y X, y Ca^{2+}, y da por resultado la producción de factor Xa. Se inicia en el sitio de lesión hística con la exposición del **factor hístico** (fig. 51-1) sobre células endoteliales y monocitos activados. El factor hístico interactúa con, y activa, el factor VII (53 kDa, un zimógeno que contiene residuos γ-carboxiglutamato [Gla] dependientes de vitamina K; cap. 44), sintetizado en el hígado. Cabe hacer notar que en los zimógenos que contienen Gla (factores II, VII, IX y X), los residuos Gla en las regiones amino terminal de las moléculas sirven como sitios de unión de alta afinidad para el Ca^{2+}. El factor hístico actúa como un cofactor para el factor VIIa (por convención, los factores de la coagulación activados se denominan mediante el uso del sufijo a), lo que aumenta su actividad enzimática para activar el factor X. La asociación del factor hístico y el factor VIIa se llama **complejo de factor hístico**. La reacción mediante la cual el factor Xa se activa requiere el montaje de componentes, denominados el complejo de tenasa extrínseco, sobre una superficie de membrana; estos componentes son el Ca^{2+}, el complejo de factor hístico y el factor X. El factor VIIa divide un enlace Arg-Ile en el factor X (56 kDa) para producir la serina proteasa de dos cadenas, el factor Xa. El factor hístico y el factor VIIa también activan el factor IX en la vía intrínseca. De hecho, **ahora se considera que la formación de complejos entre el factor hístico y el factor VIIa es el proceso clave involucrado en el inicio de la coagulación de la sangre *in vivo*.** El **inhibidor de la vía del factor hístico (TFPI)** es un importante inhibidor fisiológico de la coagulación. Es una proteína que circula en la sangre asociada con lipoproteínas. El TFPI inhibe de manera directa el factor Xa al unirse a la enzima cerca de su sitio activo. Este complejo

CUADRO 51-1 Sistema numérico para la nomenclatura de factores de la coagulación de la sangre

Factor	Nombre común	
I	Fibrinógeno	Estos factores por lo general se denominan por sus nombres comunes
II	Protrombina	
III	Factor hístico	Por lo general no se hace referencia a estos factores como factores de la coagulación
IV	Ca^{2+}	
V	Proacelerina, factor lábil, globulina aceleradora (Ac-)	
VII[1]	Proconvertina, acelerador de la conversión de protrombina sérica (SPCA), cotromboplastina	
VIII	Factor antihemofílico A, globulina antihemofílica (AHG)	
IX	Factor antihemofílico B, factor Christmas, componente de tromboplastina plasmática (PTC)	
X	Factor Stuart-Prower	
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática (PTA)	
XII	Factor Hageman	
XIII	Factor estabilizante de la fibrina (FSF), fibrinoligasa	

Nota: Los números indican el orden en el cual se han descubierto los factores, y no se relacionan con el orden en el cual actúan.
[1] No hay factor VI.

de factor Xa-TFPI a continuación inhibe el complejo del factor VIIa-factor hístico.

La vía del factor intrínseco también lleva a la activación del factor X

La activación del factor Xa es el principal sitio donde convergen las vías intrínseca y extrínseca (fig. 51-1). La vía intrínseca (fig. 51-1) comprende los factores XII, XI, IX, VIII y X, así como precalicreína, cininógeno de alto peso molecular (HMW), Ca^{2+} y fosfolípido. Da por resultado la producción del factor Xa que se divide mediante el complejo de tenasa de la vía intrínseca. La activación del factor X proporciona un importante enlace entre las vías intrínseca y extrínseca.

Esta vía puede iniciarse con la "fase de contacto" en la cual la precalicreína, el cininógeno de HMW, el factor XII y el factor XI están expuestos a una superficie activadora con carga negativa. Puede usarse caolín para pruebas *in vitro* como un iniciador de la vía intrínseca. Cuando los componentes de la fase de contacto se montan sobre la superficie activadora, el factor XII se activa hacia factor XIIa en el momento de la proteólisis por calicreína. Este factor XIIa, generado por la calicreína, ataca la precalicreína para generar más calicreína, lo que establece una activación recíproca. El factor XIIa, una vez formado, activa al factor XI hacia XIa y libera también bradicinina (un nonapéptido con potente acción vasodilatadora) del cininógeno de HMW.

El factor XIa en presencia de Ca^{2+} activa al factor IX (55 kDa, un zimógeno que contiene Gla), hacia la serina proteasa, el factor IXa. Esto a su vez también divide un enlace Arg-Ile en el factor X para producir factor Xa. Esta última reacción requiere el montaje de componentes, llamados el **complejo de tenasa intrínseco**, sobre una superficie de membrana: Ca^{2+} y el factor VIIIa, así como factores IXa y X.

El factor VIII (330 kDa), una glucoproteína, no es un precursor de proteasa sino un cofactor que sirve como un receptor para los factores IXa y X sobre la superficie plaquetaria. El factor VIII es activado por cantidades diminutas de trombina para formar factor VIIIa, que a su vez se inactiva en el momento de división adicional por trombina.

La función de los pasos iniciales de la vía intrínseca en el inicio de la coagulación se ha cuestionado, porque los pacientes que tienen una deficiencia hereditaria del factor XII, precalicreína o cininógeno de HMW no muestran problemas hemorrágicos. De modo similar, los pacientes con una deficiencia del factor XI pueden no tener problemas hemorrágicos. La vía intrínseca sirve en su mayor parte para amplificar el factor Xa y finalmente la formación de trombina, por medio de mecanismos de retroacción (véase más adelante). La vía intrínseca también puede tener importancia en la **fibrinólisis** (véase más adelante), puesto que la calicreína, el factor XIIa y el factor XIa pueden dividir el plasminógeno, y la calicreína puede activar la urocinasa de cadena única.

El factor Xa lleva a la activación de protrombina hacia trombina

El factor Xa, producido mediante la vía extrínseca o la intrínseca, activa a la **protrombina** (factor II) hacia **trombina** (factor IIa) que entonces convierte el fibrinógeno en fibrina (fig. 51-1).

La activación de la protrombina, al igual que la del factor X, ocurre en una superficie de membrana y requiere el montaje de un **complejo de protrombinasa**, que consta de Ca^{2+}, factor Va, factor Xa y protrombina. El montaje de los complejos de protrombinasa y tenasa tiene lugar sobre la superficie de membrana de las plaquetas activadas para exponer el fosfolípido acídico (aniónico) **fosfatidilserina**, que en circunstancias normales está en el lado interno de la membrana plasmática de plaquetas en reposo, no activadas.

El factor V (330 kDa), una glucoproteína con homología con el factor VIII y la ceruloplasmina, se sintetiza en el hígado, el bazo y los riñones, y se encuentra en plaquetas, así como en el plasma. Funciona como un cofactor de una manera similar a la del factor VIII en el complejo de tenasa. Cuando se activa hacia factor Va por trazas de trombina, se une de manera específica a la membrana plaquetaria (fig. 51-3) y forma un complejo con factor Xa y protrombina. Después se desactiva mediante acción adicional de la trombina, lo que proporciona un medio de limitar la activación de protrombina hacia trombina. La **protrombina** (72 kDa; fig. 51-3) es una glucoproteína de cadena única sintetizada en el hígado. La región amino terminal de la protrombina (fig. 51-2) contiene 10 residuos Gla, y el sitio de proteasa activa dependiente de serina está en el dominio catalítico cerca de la región carboxilo terminal de la molécula. En el momento de unión al complejo de factores Va y Xa sobre la membrana plaquetaria (fig. 51-3), el factor Xa divide la protrombina en dos sitios para generar la molécula de trombina de dos cadenas, activa, que a continuación se libera desde la superficie plaquetaria.

La conversión de fibrinógeno en fibrina es catalizada por la trombina

El fibrinógeno (factor I, 340 kDa; figs. 51-1 y 51-4; cuadros 51-1 y 51-2) es una glucoproteína plasmática soluble que consta de tres pares no idénticos de cadenas polipeptídicas $(A\alpha,B\beta,\gamma)_2$ enlazadas de

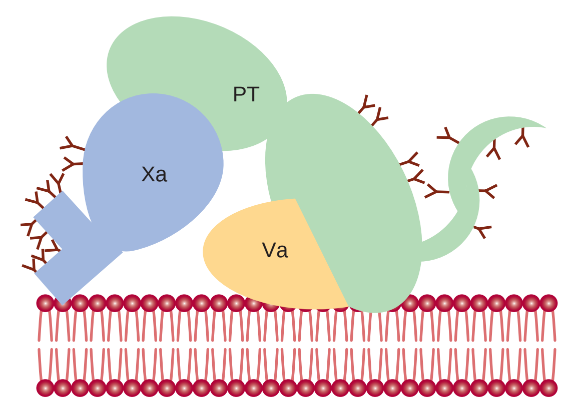


FIGURA 51-3 Representación esquemática (no a escala) de la unión de los factores Va, Xa y protrombina (PT) a la membrana plasmática de la plaqueta activada. Un tema fundamental en la coagulación de la sangre es el montaje de complejos proteínicos sobre las superficies de membrana. Residuos gamma-carboxiglutamato (indicados por Y) sobre proteínas dependientes de vitamina K se unen al calcio y contribuyen a la exposición de sitios de unión de membrana en estas proteínas. (Adaptada, con autorización, de Furie B, Furie BC: The molecular basis of blood coagulation. Cell 1988;53:505.)

manera covalente por enlaces disulfuro. Las cadenas Bβ y γ contienen oligosacáridos complejos enlazados a asparagina. Las tres cadenas se sintetizan en el hígado; los tres genes están en el mismo cromosoma, y su expresión está regulada de manera coordinada en seres humanos. Las regiones amino terminal de las seis cadenas se mantienen en estrecha proximidad mediante varios enlaces disulfuro, mientras que las regiones carboxilo terminal se separan, lo que da lugar a una molécula alargada, muy asimétrica (fig. 51-4). Las porciones Aα y Bβ de las cadenas A y B, designadas **fibropéptido A (FPA)** y **fibropéptido B (FPB)**, respectivamente, en los extremos amino terminal de las cadenas, portan cargas negativas excesivas como resultado de la presencia de residuos aspartato y glutamato, así como un O-sulfato tirosina poco común en FPB. Estas cargas negativas contribuyen a la solubilidad del fibrinógeno en el plasma, y sirven también para prevenir la agregación al causar repulsión electrostática entre moléculas de fibrinógeno.

La **trombina** (34 kDa), una serina proteasa formada por el complejo de protrombinasa, hidroliza los cuatro enlaces Arg-Gli entre los fibrinopéptidos y las porciones α y β de las cadenas Aα y Bβ del fibrinógeno (fig. 51-5A). La liberación de los fibrinopéptidos por la trombina genera monómero de fibrina, que tiene la estructura de subunidad $(\alpha, \beta, \gamma)_2$. Dado que el FPA y FPB sólo contienen 16 y 14 residuos, respectivamente, la molécula de fibrina retiene 98% de los residuos presentes en el fibrinógeno. La eliminación de los

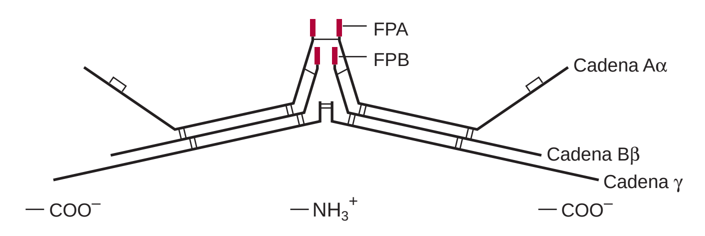


FIGURA 51-4 Representación esquemática (no a escala) del fibrinógeno, que muestra pares de cadenas Aα, Bβ y γ unidas mediante enlaces disulfuro. (FPA, fibrinopéptido A; FPB, fibrinopéptido B.)

CUADRO 51-2 Las funciones de las proteínas involucradas en la coagulación de la sangre

Zimógenos de serina proteasas	
Factor XII	Se une a superficie con carga negativa, p. ej., caolín, vidrio; es activado por cininógeno de HMW y calicreína
Factor XI	Activado por el factor XIIa
Factor IX	Activado por el factor XIa
Factor VII	Activado por trombina
Factor X	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por complejo de tenasa (Ca^{2+}, factores VIIIa y IXa) y por el factor VIIa en presencia de factor hístico y Ca^{2+}
Factor II	Activado sobre la superficie de plaquetas activadas por el complejo de protrombinasa (Ca^{2+}, factores Va y Xa) (los factores II, VII, IX y X son zimógenos que contienen Gla) (Gla = γ-carboxiglutamato)
Cofactores	
Factor VIII	Activado por trombina; el factor VIIIa es un cofactor en la activación de factor X por el factor IXa
Factor V	Activado por trombina; el factor Va es un cofactor en la activación de protrombina por el factor Xa
Factor hístico (factor III)	Una glucoproteína expresada sobre la superficie de células endoteliales y monocitos estimulados para actuar como un cofactor para el factor VIIa
Fibrinógeno	
Factor I	Dividido por la trombina para formar coágulo de fibrina
Transglutaminasa dependiente de tiol	
Factor XIII	Activado por la trombina; estabiliza el coágulo de fibrina mediante enlaces cruzados covalentes
Proteínas reguladoras y de otros tipos	
Proteína C	Activado hacia proteína Ca por la trombina unida a trombomodulina; después degrada los factores VIIIa y Va
Proteína S	Actúa como un cofactor de la proteína C; ambas proteínas contienen residuos Gla (γ-carboxiglutamato)
Trombomodulina	Proteína sobre la superficie de células endoteliales; se une a trombina, que después activa a la proteína C

fibrinopéptidos expone sitios de unión que permiten que las moléculas de monómeros de fibrina se agreguen de manera espontánea en una disposición regularmente escalonada, lo que forma un coágulo de fibrina insoluble. Es la formación del polímero de fibrina insoluble lo que atrapa plaquetas, eritrocitos y otros componentes para formar los trombos blanco o rojo. Este coágulo de fibrina inicial es más bien débil; sólo se mantiene junto por la asociación no covalente de monómeros de fibrina.

Además de convertir fibrinógeno en fibrina, la trombina también convierte el factor XIII en factor XIIIa. Este factor es una **transglutaminasa** muy específica que forma enlaces cruzados covalentes entre moléculas de fibrina al formar enlaces peptídicos entre los grupos amida de la glutamina y los grupos ϵ-amino de residuos lisina (fig. 51–5B), lo que da un coágulo de fibrina más estable con resistencia aumentada a la proteólisis.

A

Trombina

NH_3^+ Arg — Gli —//— COO^-

Fibrinopéptido (A o B)

Cadena de fibrina (α o β)

B

Fibrina — CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH_2 — NH_3^+ (Lisil)

H_2N — C(=O) — CH_2 — CH_2 — Fibrina (Glutamil)

NH_4^+

Factor XIIIa (transglutaminasa)

Fibrina — CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH_2 — NH — C(=O) — CH_2 — CH_2 — Fibrina

FIGURA 51-5 Formación de un coágulo de fibrina. **(A)** División, inducida por trombina, de enlaces Arg-Gli de las cadenas Aα y Bβ del fibrinógeno para producir fibrinopéptidos (lado izquierdo) y las cadenas α y β del monómero de fibrina (lado derecho). **(B)** Entrecruzamiento de moléculas de fibrina por factor XIII activado (factor XIIIa).

Las concentraciones de trombina circulantes se deben controlar con sumo cuidado o pueden formarse coágulos

Una vez que se forma trombina activa en el transcurso de hemostasia o trombosis, su concentración se debe controlar con sumo cuidado para prevenir formación de fibrina o activación de plaquetas adicional. Esto se logra de dos maneras. La trombina circula como su precursor inactivo, protrombina, que se activa como resultado de una cascada de reacciones enzimáticas, cada una de las cuales convierte un zimógeno inactivo en una enzima activa y lleva finalmente a la conversión de protrombina en trombina (fig. 51-1). En cada punto en la cascada, **mecanismos de retroacción** producen un delicado equilibrio de activación e inhibición. La concentración de factor XII en el plasma es de aproximadamente 30 μg/ml, mientras que la de fibrinógeno es de 3 mg/ml; la concentración de los factores de la coagulación intermedios aumenta a medida que se procede por la cascada, lo que muestra que la cascada de coagulación proporciona amplificación. El segundo medio de controlar la actividad de trombina es la desactivación de cualquier trombina formada por **inhibidores circulantes**, el más importante de los cuales es la antitrombina (véase más adelante).

La heparina aumenta la actividad de la antitrombina, un inhibidor de la trombina

En el plasma normal hay cuatro inhibidores de trombina naturales. El más importante es la **antitrombina**, que contribuye con aproximadamente 75% de la actividad antitrombina. La antitrombina también puede inhibir las actividades de los factores IXa, Xa, XIa, XIIa y VIIa que forman complejos con el factor hístico. La **α_2-macroglobulina** contribuye con la mayor parte del resto de la actividad antitrombina; el **cofactor II heparina** y la **α_1-antitripsina** actúan como inhibidores menores en condiciones fisiológicas.

La presencia de glucosaminoglucanos sulfatados (heparanos) potencia mucho la actividad endógena de la antitrombina (cap. 48). Los glucosaminoglucanos sulfatados se unen a un sitio catiónico específico de la antitrombina, lo que induce un cambio conformacional y promueve su unión a la trombina, así como a sus otros sustratos. Ésta es la base para el uso de la **heparina**, un heparán derivatizado, en medicina clínica para inhibir la coagulación. Los efectos anticoagulantes de la heparina pueden antagonizarse por medio de polipéptidos fuertemente catiónicos como la **protamina**, que se une con fuerza a la heparina, lo que, de este modo, inhibe su unión a la antitrombina.

Las **heparinas de bajo peso molecular (LMWH)**, derivadas de la división enzimática o química de heparina no fraccionada, están encontrando uso clínico cada vez mayor. Pueden administrarse por vía subcutánea en el hogar, tienen mayor biodisponibilidad que la heparina no fraccionada, y no necesitan vigilancia frecuente de laboratorio.

Los individuos con deficiencias hereditarias de antitrombina están propensos a trombosis venosa, lo que proporciona evidencia de que la antitrombina tiene una función fisiológica, y de que el sistema de coagulación en seres humanos normalmente se encuentra en un estado dinámico.

La trombina participa en otro mecanismo regulador que opera en la coagulación. Se combina con la **trombomodulina**, una glucoproteína presente sobre las superficies de células endoteliales. El complejo activa a la **proteína C** sobre el **receptor de proteína C endotelial**. En combinación con la **proteína S**, la proteína C activada (APC) degrada los factores Va y VIIIa, lo que limita sus acciones en la coagulación. Una deficiencia genética de proteína C o S puede causar trombosis venosa. Además, los pacientes con **factor V Leiden** (que tiene un residuo glutamina en lugar de arginina en la posición 506) tienen riesgo aumentado de enfermedad trombótica venosa porque el factor V Leiden es resistente a la desactivación por APC. Este estado se llama resistencia a APC.

Los anticoagulantes cumarina inhiben la carboxilación de los factores II, VII, IX y X dependiente de vitamina K

Los fármacos cumarina (p. ej., warfarina), que se usan como anticoagulantes, inhiben la carboxilación, dependiente de vitamina K, de residuos Glu a Gla (cap. 44) en las regiones amino terminal de los

factores II, VII, IX y X, y en las proteínas C y S. Estas proteínas, todas las cuales se sintetizan en el hígado, son dependientes de las propiedades de unión a Ca^{2+} de los residuos Gla para su función normal en las vías de la coagulación. Las cumarinas actúan al inhibir la reducción de los derivados quinona de la vitamina K hacia las formas hidroquinona activas (cap. 44). De este modo, la administración de vitamina K evitará la inhibición inducida por cumarina, y permite que ocurra la modificación postraduccional de la carboxilación. La reversión de la inhibición por cumarina mediante vitamina K requiere 12 a 24 h, mientras que la reversión de los efectos anticoagulantes de la heparina mediante protamina es casi instantánea.

La heparina y la warfarina se usan ampliamente en el tratamiento de estados trombóticos y tromboembólicos, como trombosis venosa profunda y embolia pulmonar. La heparina se administra primero, debido a su inicio de acción expedito, mientras que la warfarina tarda varios días en alcanzar el efecto completo. Sus efectos se vigilan de manera estrecha mediante el uso de pruebas de coagulación apropiadas (véase más adelante) debido al riesgo de producir hemorragia.

Hay varios trastornos hemorragíparos hereditarios, entre ellos hemofilia A

En seres humanos hay deficiencias hereditarias del sistema de la coagulación que dan por resultado hemorragia. La más frecuente es la deficiencia de factor VIII, que causa **hemofilia A**, una enfermedad ligada al cromosoma X que ha tenido un papel importante en la historia de las familias reales de Europa. La **hemofilia B** se debe a una deficiencia del factor IX; sus características clínicas son casi idénticas a las de la hemofilia A, pero las enfermedades pueden diferenciarse con base en valoraciones específicas que distinguen entre los dos factores.

El gen que codifica para el factor VIII del ser humano se ha clonado, y es uno de los más grandes estudiados hasta ahora; mide 186 kb de longitud y contiene 26 exones. Se han detectado diversas mutaciones en los genes que codifican para los factores VIII y IX, y llevan a actividades disminuidas de las proteínas factores VIII y IX; éstas incluyen deleciones parciales de gen y mutaciones puntuales y sin sentido. Ahora es posible el **diagnóstico prenatal** mediante análisis de DNA después de muestreo de vellosidades coriónicas.

En el pasado, el tratamiento para pacientes con hemofilia A y B constaba de la administración de **crioprecipitados** (enriquecidos en factor VIII) preparados a partir de donadores individuales o **concentrados** de factor VIII o IX liofilizado preparado a partir de fondos comunes de plasma muy grandes. Ahora es posible preparar factores VIII y IX por medio de **tecnología de DNA recombinante**. Esas preparaciones están libres de virus contaminantes (p. ej., de hepatitis A, B, C, o VIH-1) que se encuentran en el plasma de seres humanos, pero son caras; su uso puede aumentar si el costo de producción disminuye.

El trastorno hemorragíparo hereditario más frecuente es la **enfermedad de von Willebrand**, con una prevalencia de hasta 1% de la población. Se produce por una deficiencia o un defecto del **factor de von Willebrand**, glucoproteína multimérica grande que se secreta por las células endoteliales hacia el plasma, donde estabiliza el factor VIII. El factor de von Willebrand también promueve la adherencia de plaquetas en el sitio de lesión de la pared del vaso (véase más adelante).

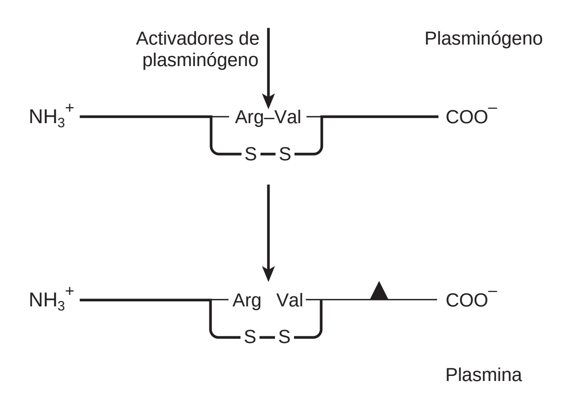


FIGURA 51-6 Activación del plasminógeno. Todos los activadores del plasminógeno dividen el mismo enlace Arg-Val para dar la molécula de plasmina de dos cadenas. El triángulo indica el residuo serina del sitio activo. Las dos cadenas de plasmina se mantienen juntas mediante un puente disulfuro.

La plasmina disuelve coágulos de fibrina

Como se mencionó, el sistema de coagulación normalmente se encuentra en un estado de equilibrio dinámico en el cual de modo constante se están depositando y disolviendo coágulos de fibrina. Este último proceso se llama **fibrinólisis**. La **plasmina**, la serina proteasa que se encarga principalmente de degradar fibrina y fibrinógeno, circula en forma de su zimógeno inactivo, el **plasminógeno** (90 kDa), y cualquier cantidad pequeña de plasmina que se forma en la fase líquida en condiciones fisiológicas se desactiva con rapidez por el inhibidor de plasmina de acción rápida, α_2-antiplasmina. El plasminógeno se une a la fibrina y, así, queda incorporado en coágulos a medida que se producen; puesto que la plasmina que se forma cuando está unida a fibrina está protegida contra la α_2-antiplasmina, permanece activa. Los **activadores del plasminógeno** de diversos tipos se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo, y todos dividen el mismo enlace Arg-Val en el plasminógeno para producir la serina proteasa de dos cadenas, plasmina (fig. 51-6). La especificidad de la plasmina para la fibrina es otro mecanismo que regula la fibrinólisis. Por medio de uno de sus dominios kringle o en rosquilla, la plasmina(ógeno) se une de manera específica a residuos lisina en la fibrina y, así, se incorpora cada vez más hacia la red de fibrina a medida que la divide. (Los dominios kringle [fig. 51-2] son motivos de proteína comunes de alrededor de 100 residuos aminoácido de longitud, que tienen una estructura covalente característica definida por un modelo de tres enlaces disulfuro.) De este modo, la carboxipeptidasa **TAFIa (inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activada)** (fig. 51-7), que elimina lisinas terminales, también puede inhibir la fibrinólisis. La trombina activa el TAFI hacia TAFIa, lo que inhibe la fibrinólisis durante la formación de coágulo.

El **activador del plasminógeno hístico (t-PA)** (fig. 51-2) es una serina proteasa que se libera hacia la circulación desde el endotelio vascular en condiciones de lesión o estrés, y es inactivo desde el punto de vista catalítico a menos que esté unido a fibrina. En el momento de la unión a fibrina, el t-PA divide el plasminógeno dentro del coágulo para generar plasmina, que a su vez digiere la fibrina para formar productos de degradación solubles y, así, disuelve el coágulo. Ni la plasmina ni el activador del plasminógeno pueden

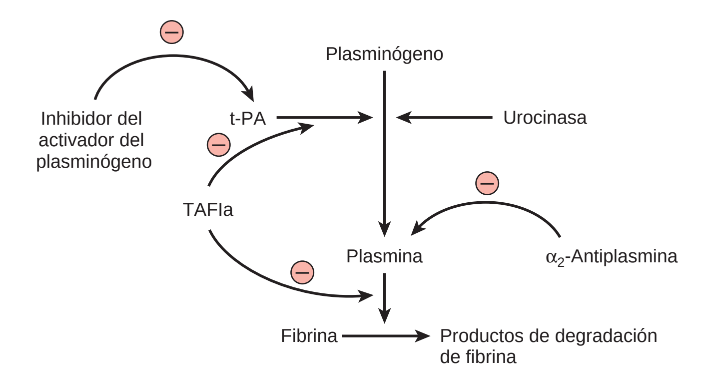


FIGURA 51-7 Inicio de la fibrinólisis mediante la activación de plasmina. Esquema de sitios de acción de activador del plasminógeno hístico (t-PA), urocinasa, inhibidor del activador del plasminógeno, α_2-antiplasmina e inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFIa) (las tres últimas proteínas ejercen acciones inhibidoras).

permanecer unidos a estos productos de degradación y, así, se liberan hacia la fase líquida, donde sus inhibidores naturales los desactivan. La prourocinasa es el precursor de un segundo activador del plasminógeno, la **urocinasa**. Originalmente aislada a partir de la orina, ahora se sabe que se sintetiza en muchos tipos de células, como monocitos y macrófagos, fibroblastos, y células epiteliales. Su principal acción quizá es la degradación de la matriz extracelular. En la figura 51-7 se indican los sitios de acción de cinco proteínas que influyen sobre la formación y acción de la plasmina.

El t-PA recombinante y la estreptocinasa se usan para deshacer coágulos

La **alteplasa**, t-PA producido mediante tecnología de DNA recombinante, se usa de modo terapéutico como un agente fibrinolítico, al igual que la **estreptocinasa**. Sin embargo, esta última es menos selectiva que el t-PA, al activar el plasminógeno en la fase líquida (donde puede degradar fibrinógeno circulante), así como plasminógeno unido a un coágulo de fibrina. La cantidad de plasmina producida mediante dosis terapéuticas de estreptocinasa puede exceder la capacidad de la α_2-antiplasmina circulante, lo que hace que el fibrinógeno, así como la fibrina, se degraden, y da por resultado el sangrado que suele encontrarse durante la terapia fibrinolítica. Debido a su **selectividad** relativa para degradar fibrina, el t-PA recombinante se ha usado ampliamente para restituir la permeabilidad de arterias coronarias después de trombosis. Si se administra en etapas lo bastante tempranas, antes de que ocurra daño irreversible del músculo cardiaco (alrededor de 6 h después del inicio de la trombosis), el t-PA puede reducir de manera importante la mortalidad por daño miocárdico después de trombosis coronaria. La estreptocinasa también se ha usado ampliamente en el tratamiento de trombosis coronaria, pero tiene la desventaja de ser antigénica.

El t-PA también se ha usado en el tratamiento de apoplejía isquémica, oclusión arterial periférica y embolia pulmonar.

Hay varios trastornos, entre ellos el cáncer y la sepsis, en los cuales **aumentan las concentraciones de activadores del plasminógeno**. Además, las actividades antiplasmina aportadas por la α_1-antitripsina y la α_2-antiplasmina pueden estar alteradas en enfermedades como la cirrosis. Dado que ciertos productos bacterianos, como la estreptocinasa, tienen la capacidad de activar el plasminógeno, quizá sean la causa de la hemorragia difusa que a veces se observa en pacientes con infecciones bacterianas diseminadas.

La activación de plaquetas comprende estimulación de la vía de la fosfoinositida

En circunstancias normales las plaquetas circulan en forma de disco no estimulada. Durante la hemostasis o trombosis, se activan y ayudan a formar tapones hemostáticos o trombos. Participan tres pasos principales: 1) adherencia de colágeno expuesto en vasos sanguíneos; 2) liberación (exocitosis) del contenido de sus gránulos de almacenamiento, y 3) agregación.

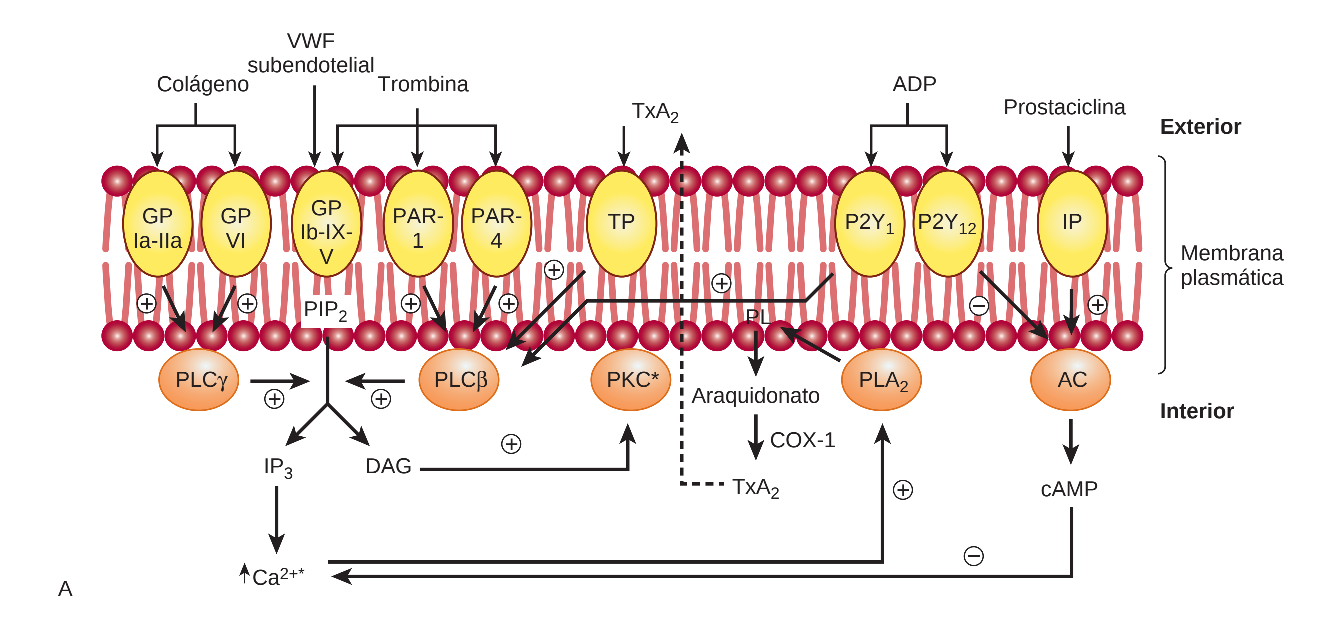
Las plaquetas se adhieren al colágeno por medio de receptores específicos sobre la superficie plaquetaria, incluso los complejos de glucoproteína GPIa-IIa ($\alpha2\beta1$ integrina; cap. 52) y GPIb-IX-V y GPVI. La unión de GPIb-IX-V al colágeno está mediada por el factor de von Willebrand; esta interacción es en especial importante en la adherencia de plaquetas al subendotelio en las condiciones de tensión de corte alta que ocurren en vasos de pequeño calibre y arterias parcialmente estenosadas.

Las plaquetas adherentes al colágeno cambian de forma y se esparcen sobre endotelio. Liberan el contenido de sus gránulos de almacenamiento (los gránulos densos y los gránulos alfa); la trombina también estimula la secreción.

La **trombina**, que se forma a partir de la cascada de la coagulación, es el activador más potente de las plaquetas, e inicia la activación al interactuar con sus receptores PAR (receptor activado por proteasa)-1, PAR-4 y GPIb-IX-V sobre la membrana plasmática de las plaquetas (fig. 51-8A). Los eventos adicionales que llevan a la activación de plaquetas en el momento de la unión a PAR-1 y PAR-4 son ejemplos de **emisión de señales transmembrana**, en la cual un mensajero químico fuera de las células genera moléculas efectoras dentro de la célula. En este caso, la trombina actúa como el mensajero químico externo (estímulo o agonista). La interacción de la trombina con sus receptores acoplados a proteína G estimula la actividad de una **fosfolipasa Cβ** intracelular. Esta enzima hidroliza el fosfolípido de membrana fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP_2, una polifosfoinositida) para formar las dos moléculas efectoras internas, 1,2-diacilglicerol y 1,4,5-trifosfato de inositol.

La hidrólisis del PIP_2 también está comprendida en la acción de muchas hormonas y fármacos. El diacilglicerol estimula a la **proteína cinasa C**, que fosforila la proteína **pleckstrina** (47 kDa). Esto da por resultado agregación y liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento. El ADP liberado a partir de gránulos densos también puede activar plaquetas, lo que origina agregación de plaquetas adicionales. El IP_3 causa liberación de Ca^{2+} hacia el citosol, principalmente a partir del sistema tubular denso (sobre el retículo endoplásmico liso residual del megacariocito), que después interactúa con calmodulina y cadena ligera de miosina cinasa, lo que lleva a fosforilación de las cadenas ligeras de la miosina. Estas cadenas después interactúan con la actina, lo que causa cambios de la forma de la plaqueta.

La activación inducida por colágeno de una fosfolipasa A_2 plaquetaria por concentraciones aumentadas de Ca^{2+} citosólico origina la liberación de ácido araquidónico a partir de fosfolípidos de las plaquetas, lo que lleva a la formación de **tromboxano A_2** (cap. 23),



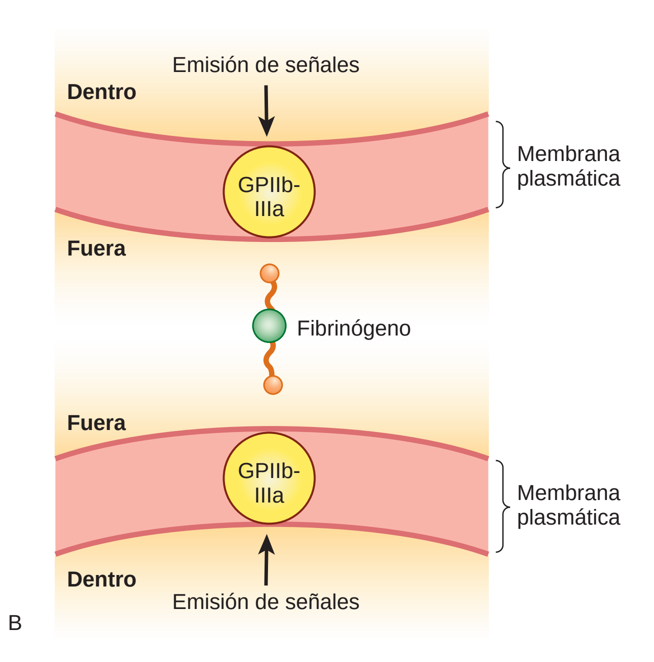


FIGURA 51-8 **(A)** Representación esquemática de la activación plaquetaria por colágeno, trombina, tromboxano A_2 y ADP, e inhibición por prostaciclina. El ambiente externo, la membrana plasmática y el interior de una plaqueta se representan de la parte superior a la inferior. *El aumento de las concentraciones de Ca^{2+} dentro de la plaqueta, y la activación de la proteína cinasa C dan por resultado eventos adicionales de emisión de señales, que llevan a cambio de la forma de la plaqueta, liberación del contenido de los gránulos de almacenamiento, y agregación. (AC, adenilil ciclasa; cAMP, AMP cíclico; COX-1, ciclooxigenasa-1; DAG, 1,2-diacilglicerol; GP, glucoproteína; IP, receptor de prostaciclina; IP_3, 1,4,5-trifosfato de inositol; $P2Y_1$, $P2Y_{12}$, purinoceptores; PAR, receptor activado de proteasa; PIP_2, fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato; PKC, proteína cinasa C; PL, fosfolípido; PLA_2, fosfolipasa A_2; PLCβ, fosfolipasa Cβ; PLCγ, fosfolipasa Cγ; TP, receptor de tromboxano A_2; TxA_2, tromboxano A_2; VWF, factor de von Willebrand.) Las proteínas G que participan no se muestran. **(B)** Representación esquemática de la agregación plaquetaria mediada por fibrinógeno que se une a moléculas de GPIIb-IIIa activadas sobre plaquetas adyacentes. Eventos de emisión de señal iniciados por todos los agentes agregantes transforman GPIIb-IIIa desde su estado en reposo hacia una forma activada que puede unirse a fibrinógeno.

que a su vez, de una manera mediada por receptor acoplado a proteína G, puede activar más a la fosfolipasa C, lo que promueve la agregación plaquetaria.

Las plaquetas activadas, además de formar un agregado plaquetario, se requieren por medio del fosfolípido aniónico recién expresado fosfatidilserina sobre la superficie de membrana, para la aceleración de la activación de los factores de la coagulación X y II (fig. 51-1).

Todos los agentes agregantes, entre ellos la trombina, el colágeno, el ADP y otros, como el factor activador de plaquetas, modifican mediante vías de emisión de señal el complejo de glucoproteína de superficie plaquetaria GPIIb-IIIa (αIIbβ3; cap. 52), de modo que el fibrinógeno puede unirse a él sobre la superficie de la plaqueta activada (fig. 51-8B). Moléculas de fibrinógeno divalente después unen entre sí plaquetas activadas adyacentes, lo que forma un agregado plaquetario. Algunos agentes, entre ellos la epinefrina,

serotonina y vasopresina, ejercen efectos sinérgicos con otros agentes agregantes.

Las células endoteliales sintetizan prostaciclina y otros compuestos que afectan la coagulación y la trombosis

Las células endoteliales en las paredes de los vasos sanguíneos hacen importantes contribuciones a la regulación general de la hemostasia y la trombosis. Estas células sintetizan **prostaciclina** (PGI_2), un potente inhibidor de la agregación plaquetaria, que se opone a la acción del tromboxano A_2 (cap. 23). La prostaciclina actúa al estimular la actividad de la adenilil ciclasa en las membranas superficiales de las plaquetas. El aumento resultante del cAMP intraplaquetario se opone al incremento de la concentración de Ca^{2+} intracelular producido por el IP_3 y, así, inhibe la activación de plaquetas (fig. 51-8). Las células endoteliales desempeñan otras funciones en la regulación de la trombosis; por ejemplo, poseen una ADPasa, que hidroliza ADP y, así, se opone al efecto agregante sobre plaquetas. Además, estas células parecen sintetizar heparán sulfato, un anticoagulante, y sintetizan también activadores del plasminógeno, que pueden ayudar a disolver trombos. En el cuadro 51-3 se listan algunas moléculas producidas por las células endoteliales, que afectan a la trombosis y la fibrinólisis. El óxido nítrico (factor relajante derivado del endotelio) se comenta en el capítulo 49.

El análisis de los mecanismos de captación de lipoproteínas aterogénicas, como LDL, por células endoteliales, de músculo liso y células monocíticas de arterias, junto con estudios detallados de cómo estas lipoproteínas dañan esas células, es un área clave de estudio en la elucidación de los mecanismos de la **aterosclerosis** (cap. 26).

CUADRO 51-3 Moléculas sintetizadas por las células endoteliales que participan en la regulación de la trombosis y fibrinólisis

Molécula	Acción
ADPasa (CD39, una ectoenzima)	Degrada ADP (un agente agregante de plaquetas) hacia AMP + P_i
Óxido nítrico (NO)	Inhibe la adherencia y agregación plaquetarias al aumentar las concentraciones de cGMP
Prostaciclina (PGI_2, una prostaglandina)	Inhibe la agregación plaquetaria al aumentar las concentraciones de cAMP
Trombomodulina (una glucoproteína)	Se une a la proteína C, que después es dividida por la trombina para dar proteína C activada; esto, en combinación con la proteína S, degrada los factores Va y VIIIa, lo que limita sus acciones
Receptor de proteína C endotelial (EPCR, una glucoproteína)	Facilita la activación de proteína C mediante el complejo de trombina-trombomodulina
Activador del plasminógeno hístico (t-PA, una proteasa)	Activa el plasminógeno hacia plasmina, que digiere fibrina; el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) se opone a la acción del t-PA

Fuente: Adaptado de Wu KK: Endothelial cells in hemostasis, thrombosis and inflammation. Hosp Pract (Off Ed) 1992 Apr; 27:145.

La aspirina es un antiplaquetario eficaz

Ciertos fármacos (antiplaquetarios) inhiben las respuestas de las plaquetas. El antiplaquetario de uso más frecuente es la aspirina (ácido acetilsalicílico), que acetila de manera irreversible y, así, inhibe el sistema de ciclooxigenasa (COX-1) plaquetario involucrado en la formación de tromboxano A_2 (cap. 15), un potente agregador de plaquetas, y vasoconstrictor. Las plaquetas son muy sensibles a la aspirina; apenas 30 mg/día (una tableta regular de aspirina contiene 325 mg) eliminan con eficacia la síntesis de tromboxano A_2. La aspirina también inhibe la producción de prostaciclina (PGI_2, que se opone a la agregación plaquetaria y es un vasodilatador) por las células endoteliales, pero a diferencia de las plaquetas, estas células regeneran ciclooxigenasa en el transcurso de algunas horas. Así, el equilibrio general entre tromboxano A_2 y prostaciclina puede desviarse a favor de esta última, lo que se opone a la agregación plaquetaria. De este modo, las indicaciones para el tratamiento con aspirina comprenden manejo de angina, infarto de miocardio en evolución, ataques isquémicos cerebrales transitorios, apoplejía isquémica aguda, estenosis grave de la arteria carótida, y prevención primaria de enfermedad aterotrombótica.

Otros antiplaquetarios comprenden el clopidogrel, un inhibidor específico del receptor $P2Y_{12}$ para ADP, y antagonistas de la unión de ligando a GPIIb–IIIa (p. ej., abciximab) que interfieren con la unión de fibrinógeno y, así, con la agregación plaquetaria.

Los análisis de laboratorio miden la coagulación, la trombólisis y la agregación plaquetaria

Se dispone de varios análisis de laboratorio para medir las fases de la hemostasia antes descritas, e incluyen recuento plaquetario, tiempo de sangrado, agregación plaquetaria, tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT o PTT), tiempo de protrombina (PT), tiempo de trombina (TT), concentración de fibrinógeno, estabilidad del coágulo de fibrina y medición de productos de degradación de la fibrina. El recuento plaquetario cuantifica el número de plaquetas, el tiempo de sangrado es un análisis general de la función de las plaquetas y la pared de los vasos, y la agregación plaquetaria mide respuestas a agentes agregantes específicos. El aPTT es una medida de la vía intrínseca, y el PT, de la vía extrínseca. El PT se usa para medir la eficacia de los anticoagulantes por vía oral, como la warfarina, y el aPTT se usa para vigilar la terapia con heparina. En un libro de hematología el lector encontrará una exposición sobre estas pruebas.

RESUMEN

- La hemostasia y la trombosis son procesos complejos que comprenden factores de la coagulación, plaquetas y vasos sanguíneos.
- Muchos factores de la coagulación son zimógenos de serina proteasas, que quedan activados durante el proceso general.
- Hay vías tanto extrínseca como intrínseca de la coagulación; la primera se inicia *in vivo* mediante el factor hístico. Las vías convergen en el factor Xa, y finalmente dan por resultado conversión, catalizada por trombina, de fibrinógeno en fibrina, que se fortalece mediante la formación de enlaces cruzados covalentes, catalizada por el factor XIIIa.

- Ocurren trastornos genéticos que llevan a sangrado; los principales comprenden el factor VIII (hemofilia A), factor IX (hemofilia B) y factor de von Willebrand (enfermedad de von Willebrand).
- La antitrombina es un importante inhibidor natural de la coagulación; la deficiencia genética de esta proteína puede dar por resultado trombosis.
- Para su actividad, los factores II, VII, IX y X, y las proteínas C y S, requieren γ-carboxilación, dependiente de vitamina K, de ciertos residuos glutamato, proceso que se inhibe mediante el anticoagulante warfarina.
- La plasmina disuelve la fibrina. La plasmina existe como un precursor inactivo, el plasminógeno, que puede ser activado por el activador del plasminógeno hístico (t-PA). Tanto el t-PA como la estreptocinasa se usan ampliamente para tratar trombosis temprana en las arterias coronarias.
- La trombina y otros agentes causan agregación plaquetaria, que comprende diversos eventos bioquímicos y morfológicos. La estimulación de la fosfolipasa C y de la vía de la fosfoinositida es un elemento clave en la activación de plaquetas, pero también participan otros procesos.
- La aspirina es un importante antiplaquetario que actúa al inhibir la producción de tromboxano A_2.

REFERENCIAS

Hoffman R et al (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. Elsevier Churchill Livingston, 2005.

Israels LG, Israels ED: *Mechanisms in Hematology*, 3rd ed. Core Health Sciences Inc, 2002. (This text has many excellent illustrations of basic mechanisms in hematology.)

Kasper DL et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. McGraw-Hill, 2008.

CAPÍTULO

52

Eritrocitos y leucocitos

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Las células sanguíneas se han estudiado de manera intensiva porque se obtienen con facilidad, así como debido a su importancia funcional, y a su participación en muchos procesos morbosos. La estructura y función de la **hemoglobina**, las **porfirias**, la **ictericia**, y aspectos del **metabolismo del hierro** se comentaron en capítulos previos.

En el cuadro 52-1 se resumen las causas de diversas enfermedades importantes que afectan a los eritrocitos; algunas se comentan en este capítulo, y el resto, en otras secciones de este libro. La **anemia** es un estado muy prevaleciente que tiene muchas causas. El **descubrimiento de las causas de ciertos tipos de anemias** (p. ej., de anemia perniciosa [una forma de anemia por deficiencia de vitamina B_{12}] y de anemia de células falciformes) ha sido un área donde la relación recíproca entre medicina y bioquímica, a la cual se hizo referencia en el capítulo 1, ha sido en extremo beneficiosa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la **anemia** como una concentración de hemoglobina de < 130 g/L en varones y < 120 g/L en mujeres.

Existen muchas causas de anemia; aquí sólo se mencionan las más importantes desde el punto de vista bioquímico. El cuadro 52-2 presenta una clasificación simplificada de las causas de anemia. Algunos de los sistemas de grupo sanguíneo, presentes en las membranas de los eritrocitos y otras células sanguíneas, tienen extrema importancia en relación con la transfusión sanguínea y el trasplante de tejido. Cada órgano del cuerpo puede quedar afectado por inflamación; los neutrófilos desempeñan una función fundamental en la inflamación aguda, y otros leucocitos, como los linfocitos, tienen funciones importantes en la inflamación crónica. Las leucemias, definidas como neoplasias malignas de los tejidos formadores de sangre, pueden afectar células precursoras de cualquiera de las principales clases de leucocitos; los tipos frecuentes son leucemias mielocíticas aguda y crónica, que afectan a precursores de los neutrófilos, y leucemias linfocíticas aguda y crónica. El conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la causa de las leucemias está aumentando con rapidez, pero no se comenta en este libro. La quimioterapia combinada, en la que se usan combinaciones de diversos quimioterápicos, todos los cuales actúan en uno o más *loci* bioquímicos, ha sido notoriamente eficaz en el tratamiento de algunos de estos tipos de leucemias. El entendimiento del papel de los eritrocitos y leucocitos en la salud y la enfermedad requiere un conocimiento de ciertos aspectos fundamentales de sus propiedades bioquímicas.

TODOS LOS ERITROCITOS SE DERIVAN DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS

En la figura 52-1 se resume el origen de los diversos tipos de células sanguíneas a partir de **células madre hematopoyéticas**. La primera evidencia sólida de la existencia de células madre, y en particular de células madre hematopoyéticas, se informó a partir de estudios efectuados en ratones por Ernest McCulloch y James Till en 1963. En años recientes, el interés por las células madre ha crecido enormemente, y ahora son de interés para casi todas las áreas de la medicina y las ciencias de la salud. Una célula madre es una célula que tiene una capacidad singular para producir células hijas no alteradas (esto es, **autorrenovación**) y para generar tipos de células especializados **(potencia)**. Las células madre pueden ser **totipotentes** (capaces de producir todas las células en un organismo), **pluripotentes** (capaces de diferenciarse hacia células de cualquiera de las tres capas germinales), **multipotentes** (que sólo producen células de una familia estrechamente relacionada) o **unipotentes** (que sólo producen un tipo de célula). Las células madre también se clasifican como **embrionarias** y de **adulto**; estas últimas tienen capacidad más limitada para diferenciarse que las primeras, aunque se están desarrollando métodos genéticos para superar esta restricción.

Los **eritrocitos** y las **plaquetas** comparten una vía de diferenciación hasta la etapa de progenitores megacariocíticos eritroides (fig. 52-1). Las células de **origen linfoide** se ramifican en la etapa de progenitores multipotentes, y **otros leucocitos** en la etapa de progenitores mieloides comunes. Cada vía está **regulada** por diversos factores (p. ej., factor de célula madre, trombopoyetina, diversas interleucinas, eritropoyetina, etc.), y **factores de transcripción** específicos clave (no indicados en la figura) también participan en las etapas indicadas.

El **factor de célula madre** es una citocina que desempeña una función importante en la proliferación de células madre hematopoyéticas y parte de su progenie. La **trombopoyetina** es una glucoproteína importante en la regulación de la producción de plaquetas por la médula ósea. Las **interleucinas** son citocinas producidas por los leucocitos; regulan diversos aspectos de la hematopoyesis y del sistema inmunitario.

EL ERITROCITO ES SENCILLO EN CUANTO A ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

Las **principales funciones del eritrocito** son relativamente simples; consisten en suministrar oxígeno a los tejidos y en ayudar en la

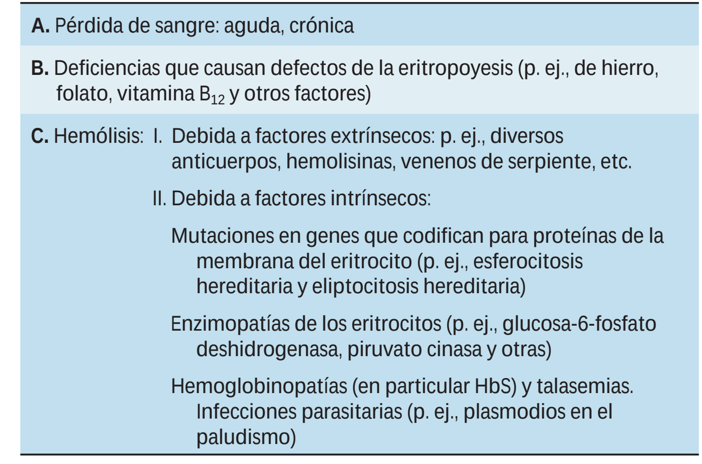
CUADRO 52-1 Resumen de las causas de algunos trastornos importantes que afectan a los eritrocitos

Trastorno	Causa única o importante
Anemia por deficiencia de hierro	Ingestión inadecuada o pérdida excesiva de hierro
Metahemoglobinemia	Ingestión excesiva de oxidantes (diversas sustancias químicas y fármacos) Deficiencia genética del sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH (OMIM 250800) Herencia de HbM (OMIM 141900)
Anemia de células falciformes (OMIM 603903)	Secuencia de codón 6 de la cadena β cambiada desde GAG en el gen normal hacia GTG en el gen de células falciformes, lo que da por resultado sustitución del ácido glutámico por valina
Talasemias α (OMIM 141800)	Mutaciones en los genes que codifican para globina α, principalmente entrecruzamiento desigual y deleciones grandes, y menos a menudo mutaciones sin sentido y por cambio de cuadro
Talasemia β (OMIM 141900)	Una variedad muy amplia de mutaciones en el gen que codifica para globina β, entre ellas deleciones, mutaciones sin sentido y por cambio de cuadro, y otras que afectan cada aspecto de su estructura (p. ej., sitios de empalme, mutantes promotores)
Anemias megaloblásticas	
Deficiencia de vitamina B_{12}	Absorción disminuida de vitamina B_{12}, a menudo debido a una deficiencia de factor intrínseco, normalmente secretado por las células parietales gástricas
Deficiencia de ácido fólico	Ingestión disminuida, absorción defectuosa, o demanda aumentada (p. ej., en el embarazo) de folato
Esferocitosis hereditaria[1] (OMIM 182900)	Deficiencias de la cantidad o de la estructura de α o β espectrina, anquirina, banda 3 o banda 4.1
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)[1] (OMIM 305900)	Diversas mutaciones en el gen (ligado a X) que codifica para G6PD, en su mayor parte mutaciones puntuales únicas
Deficiencia de piruvato cinasa (PK)[1] (OMIM 266200)	Diversas mutaciones en el gen que codifica para la isozima R (de eritrocito) de la PK
Hemoglobinuria paroxística nocturna[1] (OMIM 311770)	Mutaciones en el gen PIG-A, que afecta la síntesis de proteínas fijadas por GPI

[1]Los últimos cuatro trastornos causan anemias hemolíticas, al igual que varios de los otros trastornos listados. Casi todas las enfermedades anteriores se comentan en otros capítulos de este libro. Los números de la Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) sólo se aplican a trastornos que tienen una base genética.

eliminación de dióxido de carbono y protones formados por el metabolismo hístico. De este modo, tiene una estructura mucho más simple que casi todas las células del ser humano; en esencia está compuesto por una membrana que rodea a una solución de hemoglobina (esta proteína forma alrededor de 95% de la proteína intracelular del eritrocito). No hay organelos intracelulares, como mitocondrias, lisosomas o aparato de Golgi. Los eritrocitos de ser humano, al igual que casi todos los eritrocitos de animales, son no nucleados. Sin embargo, el eritrocito no es inerte desde el punto de vista metabólico. Se sintetiza **ATP** a partir de **glucólisis**, y es importante en procesos que ayudan al eritrocito a mantener su forma bicóncava, y en la regulación del **transporte de iones** (p. ej., mediante la Na^+-K^+ ATPasa y la proteína de intercambio de anión [véase más adelante]) y de **agua** hacia adentro y afuera de la célula. La forma bicóncava aumenta la proporción entre superficie y volumen del eritrocito, lo que facilita el intercambio de gases. El eritrocito contiene componentes de citoesqueleto (véase más adelante) que desempeñan una importante función en la determinación de su forma.

CUADRO 52-2 Una breve clasificación de las causas de anemia



A. Pérdida de sangre: aguda, crónica	
B. Deficiencias que causan defectos de la eritropoyesis (p. ej., de hierro, folato, vitamina B_{12} y otros factores)	
C. Hemólisis:	I. Debida a factores extrínsecos: p. ej., diversos anticuerpos, hemolisinas, venenos de serpiente, etc.
	II. Debida a factores intrínsecos:
	Mutaciones en genes que codifican para proteínas de la membrana del eritrocito (p. ej., esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria)
	Enzimopatías de los eritrocitos (p. ej., glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, piruvato cinasa y otras)
	Hemoglobinopatías (en particular HbS) y talasemias. Infecciones parasitarias (p. ej., plasmodios en el paludismo)

Nota: En la figura 52-3 también se indican las causas de anemias hemolíticas. En la anemia, los eritrocitos pueden ser de **mayor tamaño** que lo normal (macrocitos, como en las deficiencias de folato y de vitamina B_{12}), o de **tamaño normal** (normocitos, como en la pérdida de sangre o la insuficiencia de la médula ósea, aguda) o de **menor tamaño** que lo normal (microcitos, como en la anemia por deficiencia de hierro). También pueden **teñirse** con mayor intensidad que lo habitual (hipercrómicos), normalmente (normocrómicos) o ser más pálidos que lo habitual (hipocrómicos). Estas diferencias de la intensidad de la tinción reflejan de manera cualitativa contenido más alto, normal o más bajo de hemoglobina.

Alrededor de 2 000 000 de eritrocitos entran en la circulación cada segundo

El **lapso de vida** del eritrocito normal es de 120 días; esto significa que poco menos de 1% de la población de eritrocitos (200 mil millones de células, o 2 millones por segundo) será remplazado cada día. Los nuevos eritrocitos que aparecen en la circulación aún contienen ribosomas y elementos del retículo endoplásmico. El RNA de los ribosomas puede detectarse mediante coloraciones idóneas (como azul de cresilo), y las células que lo contienen se denominan reticulocitos; normalmente ascienden a alrededor de 1% del recuento eritrocítico total. El lapso de vida del eritrocito puede estar notoriamente acortado en diversas **anemias hemolíticas**. En estas enfermedades se observa gran incremento del número de reticulocitos, puesto que la médula ósea intenta compensar la desintegración rápida de eritrocitos al aumentar la cantidad de eritrocitos jóvenes nuevos en la circulación.

La eritropoyetina regula la producción de eritrocitos

La **eritropoyetina (EPO)** de ser humano es una glucoproteína de 166 aminoácidos (masa molecular de alrededor de 34 kDa). Su cantidad en el plasma puede medirse mediante radioinmunovaloración. Es el principal regulador de la eritropoyesis en seres humanos

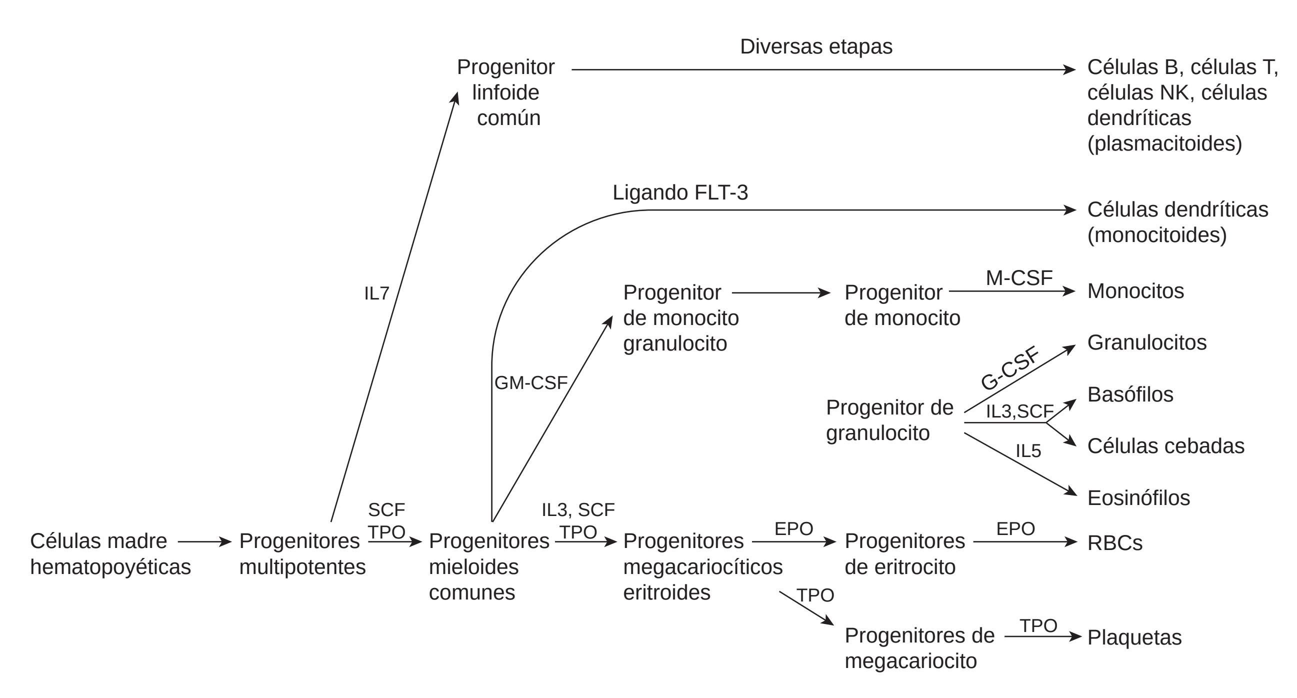


FIGURA 52-1 Esquema simplificado de la diferenciación de eritrocitos y otras células sanguíneas a partir de la célula madre hematopoyética. Se muestran los sitios de acción de interleucinas (IL-7, IL-3 e IL-5), factor de célula madre (SCF), trombopoyetina (TPO), ligando FLT-3 (un factor de crecimiento), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). No se muestran los sitios de acción de importantes factores de transcripción. Diversos pasos en el desarrollo de células linfoides (parte superior de la figura) se han omitido y abreviado a un paso. (Modificada, con autorización, de Scadden DT, Longo DL en Fauci AS *et al*. [editores], *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed, Chapter 68, McGraw-Hill, 2008.)

(fig. 52-1). Como se muestra en la figura, las etapas más tempranas en el desarrollo de eritrocitos involucran factor de células madre, trombopoyetina e interleucina-3. La EPO se sintetiza principalmente en los riñones, y se libera en respuesta a hipoxia hacia el torrente sanguíneo, en el cual viaja hasta la médula ósea. Ahí interactúa con progenitores de eritrocitos mediante un receptor específico. El receptor es una proteína transmembrana que consta de dos subunidades y varios dominios. No es una tirosina cinasa, pero estimula las actividades de miembros específicos de esta clase de enzimas involucradas en transducción de señal torrente abajo.

La disponibilidad de un cDNA para EPO ha hecho posible producir cantidades considerables de esta hormona para análisis y para propósitos terapéuticos; previamente el aislamiento de eritropoyetina a partir de la orina de ser humano proporcionaba cantidades muy pequeñas de la proteína. El principal uso de la **EPO recombinante** ha sido en el tratamiento de un pequeño número de **estados anémicos**, como el que se debe a insuficiencia renal. Se han hecho intentos por prolongar la vida media de la EPO (lo que prolonga su actividad) en la circulación al alterar la naturaleza de sus cadenas de azúcar (cap. 47).

MUCHOS FACTORES DE CRECIMIENTO REGULAN LA PRODUCCIÓN DE LEUCOCITOS

Durante los últimos años se ha identificado gran número de **factores de crecimiento hematopoyéticos** además de la eritropoyetina. Esta área de estudio contribuye al conocimiento acerca de la diferenciación de las células sanguíneas, proporciona factores que pueden ser útiles en el tratamiento, y tiene también inferencias para entender el crecimiento anormal de las células sanguíneas (p. ej., las leucemias). Al igual que la eritropoyetina, casi todos los factores de crecimiento aislados han sido glucoproteínas, son muy activos *in vivo*, e *in vitro* interactúan con sus células blanco por medio de receptores de superficie celular específicos, y finalmente (por medio de señales intracelulares) afectan la expresión de gen, lo que promueve la diferenciación. Muchos se han clonado, lo que permite su producción en cantidades relativamente grandes. Dos de interés particular son los **factores estimulantes de colonias de granulocitos** y **de granulocitos-macrófagos** (G-CSF y GM-CSF, respectivamente). El G-CSF es más o menos específico, al inducir de modo principal granulocitos, mientras que el GM-CSF induce una variedad más amplia de leucocitos (fig. 52-1). La producción de neutrófilos gravemente deprimida se denomina **neutropenia**. Es en particular probable que ocurra en pacientes tratados con ciertos regímenes quimioterápicos, y después de trasplante de médula ósea. Estos pacientes están propensos a infecciones abrumadoras. Se ha administrado G-CSF a esos pacientes a fin de reforzar la producción de neutrófilos.

EL ERITROCITO TIENE UN METABOLISMO SINGULAR Y RELATIVAMENTE SIMPLE

En el cuadro 52-3 se resumen diversos aspectos del **metabolismo del eritrocito**, muchos de los cuales se comentan en otros capítulos de este libro.

CUADRO 52-3 Resumen de los aspectos importantes del metabolismo del eritrocito

- El eritrocito depende mucho de la glucosa como su fuente de energía; su membrana contiene transportadores de glucosa de alta afinidad.
- La glucólisis, que produce lactato, es el sitio de producción de ATP.
- Dado que no hay mitocondrias en los eritrocitos, no hay producción de ATP mediante fosforilación oxidativa.
- El eritrocito tiene diversos transportadores que mantienen el equilibrio iónico y de agua.
- La producción de 2,3-bisfosfoglicerato, mediante reacciones estrechamente asociadas con glucólisis, tiene importancia en la regulación de la capacidad de la Hb para transportar oxígeno.
- La vía de la pentosa fosfato es operativa en el eritrocito (metaboliza alrededor de 5 a 10% del flujo total de glucosa) y produce NADPH; la anemia hemolítica debida a deficiencia de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es frecuente.
- El glutatión reducido (GSH) es importante en el metabolismo del eritrocito, en parte para contrarrestar la acción de peróxidos en potencia tóxicos; el eritrocito puede sintetizar GSH, y requiere NADPH para regresar el glutatión oxidado (GSSG) al estado reducido.
- El hierro de la Hb debe mantenerse en el estado ferroso; el hierro férrico se reduce al estado ferroso mediante la acción de un sistema de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH que comprende citocromo b_5 reductasa y citocromo b_5.
- En el eritrocito no se sintetizan glucógeno, ácidos grasos, proteína ni ácidos nucleicos; sin embargo, algunos lípidos (p. ej., colesterol) en la membrana del eritrocito pueden intercambiarse con lípidos plasmáticos correspondientes.
- El eritrocito contiene ciertas enzimas del metabolismo de nucleótidos (p. ej., adenosina desaminasa, pirimidina nucleotidasa y adenilil cinasa); las deficiencias de estas enzimas participan en algunos casos de anemia hemolítica.
- Cuando los eritrocitos llegan al final de su lapso de vida, la globina se degrada hacia aminoácidos (que se reutilizan en el cuerpo), el hierro se libera del hem y se reutiliza también, y el componente tetrapirrol del hem se convierte en bilirrubina, que se excreta principalmente hacia el intestino por medio de la bilis.

El eritrocito tiene un transportador de glucosa en su membrana

El índice de entrada de glucosa hacia los eritrocitos es mucho mayor que el que se calcularía para la difusión simple. Más bien, es un ejemplo de **difusión facilitada** (cap. 40). La proteína específica involucrada en este proceso se llama el **transportador de glucosa** (GLUT1) o glucosa permeasa; en el cuadro 52-4 se resumen algunas de sus propiedades. El proceso de entrada de glucosa hacia los eritrocitos tiene gran importancia porque es el principal aporte de combustible para estas células. Se han aislado alrededor de 12 transportadores de glucosa diferentes, pero relacionados, a partir de diversos tejidos de ser humano; al contrario del transportador eritrocítico, algunos de éstos son dependientes de insulina (p. ej., en músculo y tejido adiposo). Hay considerable interés por estos últimos tipos de transportador porque los defectos en su reclutamiento a partir de sitios intracelulares hacia la superficie de células de músculo esquelético pueden ayudar a explicar la **resistencia a la insulina** desplegada por pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

CUADRO 52-4 Algunas propiedades del transportador de glucosa de la membrana del eritrocito (GLUT1)

- Constituye alrededor de 2% de la proteína de la membrana del eritrocito.
- Muestra especificidad por la glucosa y D-hexosas relacionadas (las L-hexosas no se transportan).
- El transportador funciona a aproximadamente 75% de su $V_{máx}$ a la concentración fisiológica de glucosa en la sangre, es saturable, y puede ser inhibido por ciertos análogos de la glucosa.
- Hasta la fecha se han detectado alrededor de 12 transportadores de glucosa similares en tejidos de mamífero, uno de los cuales es el transportador eritrocítico.
- No depende de la insulina, al contrario del acarreador correspondiente en los tejidos muscular y adiposo.
- Se ha determinado su secuencia de aminoácidos completa (492 aminoácidos).
- Transporta glucosa cuando se inserta en lisosomas artificiales.
- Se estima que contiene 12 segmentos helicoidales transmembrana.
- Funciona al generar un poro con compuerta en la membrana para permitir el paso de glucosa; el poro depende desde el punto de vista conformacional de la presencia de glucosa, y puede oscilar con rapidez (alrededor de 900 veces/s).

Los reticulocitos son activos en la síntesis de proteína

El eritrocito maduro no puede sintetizar proteína. Los **reticulocitos** son activos en la síntesis de proteína. Una vez que los reticulocitos entran en la circulación, pierden sus organelos intracelulares (ribosomas, mitocondrias, etc.) en el transcurso de alrededor de 24 h, se convierten en eritrocitos jóvenes y de manera concomitante pierden su capacidad para sintetizar proteína. Los extractos de reticulocitos de conejo (obtenidos al inyectar a conejos una sustancia química —fenilhidrazina— que causa una anemia hemolítica grave, de modo que los eritrocitos quedan remplazados casi por completo por reticulocitos) se usan ampliamente como un sistema *in vitro* para la síntesis de proteínas. Los mRNA endógenos presentes en estos reticulocitos se destruyen mediante el uso de una nucleasa, cuya actividad puede inhibirse al añadir Ca^{2+}. A continuación se programa el sistema al añadir mRNA purificados o extractos de mRNA de célula entera, y se sintetizan proteínas radiactivas en presencia de L-metionina ^{35}S-marcada u otros aminoácidos radiomarcados. Las proteínas radiactivas sintetizadas se separan mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) y se detectan por medio de radioautografía.

La superóxido dismutasa, la catalasa y el glutatión protegen a los eritrocitos contra estrés y daño oxidativos

Varios **oxidantes** potentes se producen en el transcurso del metabolismo, tanto en células sanguíneas como en casi todas las otras células del cuerpo. Éstos incluyen superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales peroxilo ($ROO^{\bullet}$), y radicales hidroxilo

CUADRO 52-5 Reacciones de importancia en relación con el estrés oxidativo en eritrocitos y diversos tejidos

1. Producción de superóxido (subproducto de varias reacciones)	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$
2. NADPH oxidasa	$2\ O_2 + NADPH \rightarrow 2\ O_2^{\cdot -} + NADP + H^+$
3. Superóxido dismutasa	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
4. Catalasa	$H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$
5. Mieloperoxidasa	$H_2O_2 + X^- + H^+ \rightarrow HOX + H_2O$ ($X^- = Cl^-, Br^-, SCN^-$)
6. Glutatión peroxidasa (dependiente de Se)	$2\ GSH + R\text{-}O\text{-}OH \rightarrow GSSG + H_2O + ROH$
7. Reacción de Fenton	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$
8. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro	$O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\bullet} + OH^-$
9. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)	G6P + NADP → 6 Fosfogluconato + NADPH + H^+
10. Glutatión reductasa	G-S-S-G + NADPH + H^+ → 2 GSH + NADP

($OH^{\bullet}$), y se denominan **especies de oxígeno reactivas (ROS)**. Los **radicales libres** son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón no pareado (caps. 15 y 45). El $OH^{\bullet}$ es una molécula en particular reactiva, y puede reaccionar con proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y otras moléculas para alterar su estructura y producir daño de tejido. Las reacciones que se listan en el cuadro 52-5 tienen importancia en la formación de estos oxidantes y en su eliminación; ahora se considerará cada una de estas reacciones a su vez.

El **superóxido** se forma (reacción 1) en los eritrocitos mediante la autooxidación de hemoglobina hacia metahemoglobina (se ha calculado que cada día se autooxida aproximadamente 3% de la hemoglobina en los eritrocitos de ser humano); en otros tejidos, se forma mediante la acción de enzimas como la citocromo P450 reductasa y la xantina oxidasa. Cuando se estimulan por contacto con bacterias, los **neutrófilos** muestran una **explosión respiratoria** (véase más adelante), y producen superóxido en una reacción catalizada por la NADPH oxidasa (reacción 2). El superóxido se dismuta de manera espontánea para formar H_2O_2 y O_2; sin embargo, la acción de la enzima **superóxido dismutasa** acelera tremendamente el índice de esta misma reacción (reacción 3). El **peróxido de hidrógeno** está sujeto a varios destinos. La enzima **catalasa**, presente en muchos tipos de células, lo convierte en H_2O y O_2 (reacción 4). Los neutrófilos poseen una enzima singular, la **mieloperoxidasa**, que usa H_2O_2 y halidos para producir ácidos hipohalosos (reacción 5); más adelante se profundiza en este tema. La enzima que contiene selenio, **glutatión peroxidasa** (cap. 21), también actuará sobre el glutatión reducido (GSH) y H_2O_2 para producir glutatión oxidado (GSSG) y H_2O (reacción 6); esta enzima también puede usar otros peróxidos como sustratos. El $OH^{\bullet}$ y el OH^- pueden formarse a partir de H_2O_2 en una reacción no enzimática catalizada por Fe^{2+} (la **reacción de Fenton**, reacción 7). El $O_2^{\cdot -}$ y el H_2O_2 son los sustratos en la **reacción de Haber-Weiss** catalizada por hierro (reacción 8), que también produce $OH^{\bullet}$ y OH^-. El superóxido puede liberar iones de hierro a partir de la ferritina. De este modo, la producción de $OH^{\bullet}$ puede ser uno de los mecanismos involucrados en la lesión hística debida a sobrecarga de hierro en la hemocromatosis (caso núm. 10, cap. 54).

Los compuestos químicos y las reacciones capaces de generar especies de oxígeno tóxicas potenciales pueden denominarse **prooxidantes**. Por otro lado, los compuestos y las reacciones que eliminan estas especies, al recolectarlas, suprimir su acción u oponerse a sus acciones, son **antioxidantes**, e incluyen compuestos como NADPH, GSH, ácido ascórbico y vitamina E. En una célula normal hay un equilibrio apropiado entre prooxidante y antioxidante. Sin embargo, este equilibrio puede desviarse hacia los prooxidantes cuando la producción de especies de oxígeno aumenta mucho (p. ej., después de la ingestión de ciertas sustancias químicas o fármacos) o cuando las concentraciones de antioxidantes están disminuidas (p. ej., por desactivación de enzimas involucradas en la eliminación de especies de oxígeno y por condiciones que causan cifras bajas de los antioxidantes mencionados). Este estado se llama **"estrés oxidativo"** (cap. 45) y puede suscitar serio daño celular si el estrés es masivo o prolongado.

Ahora se cree que las especies de oxígeno reactivas (ROS) desempeñan una función importante en muchos tipos de **lesión celular** (p. ej., originada por la administración de diversas sustancias químicas tóxicas o por isquemia), algunos de los cuales pueden originar muerte celular. La protección contra lesión celular en una situación en estudio al administrar una enzima como superóxido dismutasa o catalasa, proporciona evidencia indirecta que apoya una participación de estas especies en la generación de lesión celular.

La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es frecuente en ciertas áreas, y es una causa importante de anemia hemolítica

El **NADPH**, producido en la reacción catalizada por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa ligada a X (cuadro 52-5, reacción 9) en la **vía de la pentosa fosfato** (cap. 21), desempeña una función clave en el suministro de equivalentes reductores en el eritrocito y en otras células como el hepatocito. Dado que la vía de la pentosa fosfato es casi su único medio de producir NADPH, el eritrocito es muy sensible al daño oxidativo si la función de esta vía está alterada (p. ej., por deficiencia de enzima). Una función del NADPH es reducir GSSG hacia GSH, reacción catalizada por la glutatión reductasa (reacción 10).

La deficiencia de la actividad de la **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa**, debido a mutación, es en extremo frecuente en algunas regiones del mundo (p. ej., África tropical, el Mediterráneo, ciertas partes de Asia, y Norteamérica entre sujetos de raza negra). Es la más frecuente de las enzimopatías (enfermedades causadas por anormalidades de enzimas), y se han distinguido alrededor de 140 variantes genéticas de la enzima; se estima que al menos 400 mi-

llones de personas tienen un gen variante. Se cree que una forma anormal de esta enzima confiere resistencia contra el paludismo. El trastorno que se origina por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es la **anemia hemolítica**. La enfermedad causada por una forma anormal de una enzima se denomina **enzimopatía**. El consumo de habas (*Vicia faba*) por individuos que tienen deficiencia de la actividad de la enzima puede precipitar un ataque agudo de anemia hemolítica porque contienen oxidantes potenciales. Además, varios fármacos (p. ej., el antipalúdico **primaquina** [la enfermedad causada por ingestión de primaquina se llama **anemia hemolítica sensible a primaquina**] y **sulfonamidas**) y sustancias químicas (p. ej., naftaleno) precipitan un ataque, porque su ingestión lleva a generación de H_2O_2 u $O_2^{\cdot-}$. En circunstancias normales, el H_2O_2 se elimina mediante **catalasa** y **glutatión peroxidasa** (cuadro 52-5, reacciones 4 y 6); esta última origina aumento de la producción de GSSG. El GSH se regenera a partir de GSSG mediante la acción de la enzima **glutatión reductasa**, que depende de la disponibilidad de NADPH (reacción 10). Los eritrocitos de individuos que tienen deficiencia de la actividad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no pueden generar suficiente NADPH para regenerar GSH a partir de GSSG, lo que a su vez altera su capacidad para eliminar H_2O_2 y radicales de oxígeno. Estos compuestos pueden causar oxidación de grupos SH cruciales en proteínas, y posiblemente peroxidación de lípidos en la membrana del eritrocito, lo que causa lisis de esta última. Algunos de los grupos SH de la hemoglobina se oxidan, y la proteína se precipita dentro del eritrocito, lo que forma **cuerpos de Heinz**, que se tiñen de púrpura con violeta de cresilo. La presencia de cuerpos de Heinz indica que los eritrocitos han quedado sujetos a estrés oxidativo. En la figura 52-2 se resume la posible cadena de eventos en la anemia hemolítica debida a deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

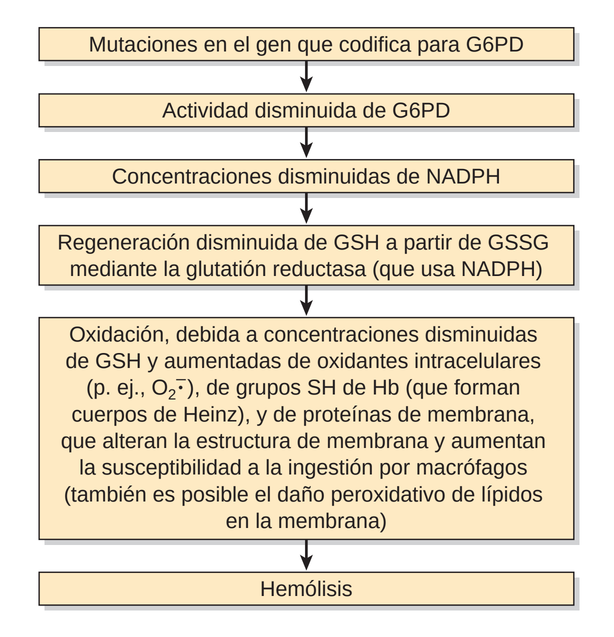


FIGURA 52-2 Resumen de probables eventos que causan anemia hemolítica debido a deficiencia de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (OMIM 305900).

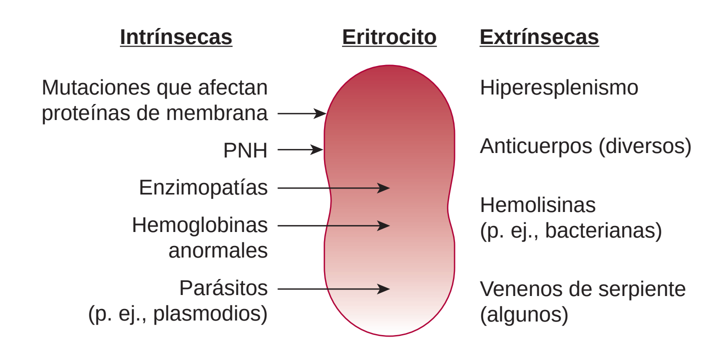


FIGURA 52-3 Diagrama esquemático de algunas causas de anemias hemolíticas. Las causas extrínsecas son causas fuera del eritrocito; comprenden hiperesplenismo, diversos anticuerpos, ciertas hemolisinas bacterianas, y algunos venenos de serpiente. Las causas intrínsecas a los eritrocitos son mutaciones que afectan las estructuras de proteínas de membrana (p. ej., en la esferocitosis hereditaria y la eliptocitosis hereditaria), PNH (hemoglobinuria paroxística nocturna; cap. 47), enzimopatías, hemoglobinas anormales y ciertos parásitos (p. ej., plasmodios que causan paludismo).

Las anemias hemolíticas se producen por anormalidades fuera, dentro o en el interior de la membrana del eritrocito

En la figura 52-3 se resumen diversas causas de anemias hemolíticas. Las causas **fuera de la membrana** (esto es, extrínsecas) comprenden **hiperesplenismo**, un estado en el cual el bazo está agrandado por diversas causas, y los eritrocitos quedan secuestrados en él. **Diversos anticuerpos** (p. ej., reacciones de transfusión y anticuerpos anti-Rh, la presencia en el plasma de anticuerpos calientes y fríos que lisan eritrocitos) también caen dentro de esta clase, al igual que **hemolisinas** liberadas por diversos agentes infecciosos, como ciertas bacterias (p. ej., ciertas cepas de *E. coli* y clostridios). Algunas serpientes liberan **venenos** cuya acción lisa la membrana eritrocítica (p. ej., por medio de la acción de fosfolipasas o proteinasas).

Las causas **dentro de la membrana** (intrínsecas) comprenden anormalidades de proteínas. Las enfermedades más importantes son **esferocitosis hereditaria** y **eliptocitosis hereditaria**, principalmente causadas por anormalidades de la cantidad o estructura de la espectrina (véase más adelante). La **hemoglobinuria paroxística nocturna** se comenta en el capítulo 47.

Las causas en el **interior del eritrocito** (también intrínsecas) incluyen **hemoglobinopatías** y **enzimopatías**. La anemia de células falciformes y las talasemias son las hemoglobinopatías más prevalecientes. Las anormalidades de enzimas en la vía de la pentosa fosfato y en la glucólisis son las enzimopatías más frecuentes, en particular la primera. La deficiencia de **glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** es prevaleciente en ciertas partes del mundo, y es una causa frecuente de anemia hemolítica (véase antes). La deficiencia de **piruvato cinasa** es rara, pero es la segunda deficiencia de enzima más frecuente que resulta en anemia hemolítica; el mecanismo parece deberse a alteración de la glucólisis, lo que origina formación disminuida de ATP, y afecta diversos aspectos de la integridad de membrana. Las infecciones **parasitarias** (p. ej., plasmodios que causan paludismo) también provocan importantes anemias hemolíticas en ciertas áreas geográficas. Para investigaciones de laboratorio véase el cuadro 52-6.

CUADRO 52-6 Investigaciones de laboratorio que ayudan en el diagnóstico de anemia hemolítica

Pruebas y datos generales
Bilirrubina no conjugada (indirecta) aumentada
Supervivencia de eritrocitos acortada según se mide mediante inyección de eritrocitos autólogos marcados con ^{51}Cr
Reticulocitosis
Concentración plasmática baja de haptoglobina
Pruebas y datos específicos
Electroforesis de Hb (p. ej., HbS)
Enzimas de eritrocitos (p. ej., deficiencia de G6PD o de piruvato cinasa)
Fragilidad osmótica (p. ej., esferocitosis hereditaria)
Prueba de Coombs[1]
Crioaglutininas

[1]La prueba de Coombs directa detecta la presencia de anticuerpos sobre eritrocitos, mientras que la prueba indirecta detecta la presencia de anticuerpos circulantes contra antígenos presentes en los eritrocitos.

La metahemoglobina es inútil en el transporte de oxígeno

El hierro ferroso de la hemoglobina es susceptible a oxidación por superóxido y otros agentes oxidantes, lo que forma **metahemoglobina**, que no puede transportar oxígeno. Sólo una cantidad muy pequeña de metahemoglobina está presente en la sangre normal, puesto que el eritrocito posee un sistema eficaz (el sistema de la NADH-citocromo b_5 metahemoglobina reductasa) para reducir el hem Fe^{3+} de regreso al estado de Fe^{2+}. Este sistema consta de **NADH** (generado mediante glucólisis), una flavoproteína llamada **citocromo b_5** reductasa (también conocida como metahemoglobina reductasa), y **citocromo b_5**. El Fe^{3+} de la metahemoglobina se reduce de regreso al estado de Fe^{2+} mediante la acción del citocromo b_5 reducido:

$$\text{Hb} - \text{Fe}^{3+} + \text{Cit } b_{5red} \rightarrow \text{Hb} - \text{Fe}^{2+} + \text{Cit } b_{5ox}$$

El citocromo b_5 reducido después se regenera mediante la acción de la citocromo b_5 reductasa:

$$\text{Cit } b_{5ox} + \text{NADH} \rightarrow \text{Cit } b_{5red} + \text{NAD}$$

La metahemoglobinemia es hereditaria o adquirida

La **metahemoglobinemia** puede clasificarse como **hereditaria** o **adquirida** por ingestión de ciertos fármacos y sustancias químicas. Ni uno ni otro tipo es frecuente, pero los médicos deben estar informados respecto a ellos. La forma hereditaria por lo general se debe a actividad deficiente de la **citocromo b_5** reductasa, pero las mutaciones también pueden afectar la actividad del citocromo b_5. Ciertas **hemoglobinas anormales** (p. ej., HbM) también son causas raras de metahemoglobinemia. En la HbM, la mutación cambia el residuo aminoácido al cual está fijo el hem, lo que altera su afinidad por el oxígeno y favorece su oxidación. La ingestión de **ciertos fármacos** (p. ej., sulfonamidas) o **sustancias químicas** (p. ej., anilina) puede causar metahemoglobinemia adquirida. La cianosis (coloración azulada de la piel y las mucosas debido a cantidades aumentadas de hemoglobina desoxigenada en la sangre arterial, o en este caso debido a cantidades aumentadas de metahemoglobina) por lo general es el signo de presentación en ambos tipos, y es evidente cuando más de 10% de la hemoglobina se encuentra en la forma “met”. El diagnóstico se efectúa mediante análisis espectroscópico de la sangre, que revela el espectro de absorción característico de la metahemoglobina. Además, una muestra de sangre que contiene metahemoglobina no se puede reoxigenar por completo al exponerla a oxígeno, mientras que la sangre desoxigenada normal puede hacerlo. La electroforesis puede usarse para confirmar la presencia de una hemoglobina anormal. La ingestión de **azul de metileno** o **ácido ascórbico** (ambos agentes reductores) se usa para tratar metahemoglobinemia leve consecutiva a deficiencia de enzima. La metahemoglobinemia masiva aguda (por ingestión de sustancias químicas) debe tratarse mediante inyección de azul de metileno por vía intravenosa.

SE SABE MÁS ACERCA DE LA MEMBRANA DEL ERITROCITO QUE DE LA MEMBRANA SUPERFICIAL DE CUALQUIER OTRA CÉLULA DE SER HUMANO

Se han usado diversos métodos bioquímicos para estudiar la membrana del eritrocito; entre ellos están el análisis de proteínas de membrana mediante SDS-PAGE, el uso de enzimas específicas (proteinasas, glucosidasas y otras) para determinar la ubicación de proteínas y glucoproteínas en la membrana, y diversas técnicas para estudiar tanto la composición de lípido como la disposición de lípidos individuales. También se han usado ampliamente técnicas morfológicas (p. ej., microscopia electrónica, microscopia electrónica de congelación-fractura) y de otros tipos (p. ej., uso de anticuerpos contra componentes específicos). Cuando los eritrocitos se lisan en condiciones específicas, su membrana se volverá a sellar en su orientación original para formar **fantasmas** (fantasmas al derecho). Al alterar las condiciones, puede hacerse que los fantasmas se vuelvan a sellar con su cara citosólica expuesta en el exterior (fantasmas al revés). Ambos tipos de fantasmas han sido útiles en el análisis de la disposición de proteínas y lípidos específicos en la membrana. En años recientes han quedado disponibles cDNA para muchas proteínas de esta membrana, lo que permite la deducción de sus secuencias y dominios amino. En conjunto, se sabe más acerca de la membrana del eritrocito que de cualquier otra membrana de células de ser humano (cuadro 52-7).

El análisis mediante SDS-PAGE resuelve las proteínas de la membrana del eritrocito

Cuando las membranas de los eritrocitos se analizan mediante **SDS-PAGE** se resuelven alrededor de 10 proteínas principales (fig. 52-4), varias de las cuales se ha mostrado que son **glucoproteínas**. Su migración en la SDS-PAGE se usó para nombrar estas proteínas; la de

CUADRO 52-7 Resumen de la información bioquímica acerca de la membrana del eritrocito de ser humano

- La membrana es una bicapa compuesta de alrededor de 50% de lípido y 50% de proteína.
- Las principales clases de lípido son fosfolípidos y colesterol; los principales fosfolípidos son fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS) junto con esfingomielina (Sph).
- Los fosfolípidos que contienen colina, PC y Sph, predominan en la hojuela externa, y los que contienen amino (PE y PS), en la hojuela interna.
- Los glucoesfingolípidos (GSL) (GSL neutros, gangliósidos, y especies complejas, entre ellas las sustancias del grupo sanguíneo ABO) constituyen alrededor de 5 a 10% del lípido total.
- El análisis mediante SDS-PAGE muestra que la membrana contiene alrededor de 10 proteínas importantes y más de 100 especies menores.
- Las principales proteínas (que incluyen espectrina, anquirina, la proteína de intercambio de anión, actina, y banda 4.1) se han estudiado de manera intensiva, y se han establecido las principales características de su disposición (p. ej., integral o periférica), estructura y función.
- Muchas de las proteínas son glucoproteínas (p. ej., las glucoforinas) que contienen cadenas de oligosacárido O-enlazadas o N-enlazadas (o ambas) ubicadas sobre la superficie externa de la membrana.

CUADRO 52-8 Principales proteínas de la membrana del eritrocito

Número de banda[1]	Proteína	Integral (I) o periférica (P)	Masa molecular aproximada (kDa)
1	Espectrina (α)	P	240
2	Espectrina (β)	P	220
2.1	Anquirina	P	210
2.2	Anquirina	P	195
2.3	Anquirina	P	175
2.6	Anquirina	P	145
3	Proteína de intercambio de anión	I	100
4.1	Sin nombre	P	80
5	Actina	P	43
6	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	P	35
7	Tropomiosina	P	29
8	Sin nombre	P	23
	Glucoforinas A, B y C	I	31, 23, y 28

Fuente: Adaptado de Lux DE, Becker PS: Disorders of the red cell membrane skeleton: hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. Chapter 95 en: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6th ed. Scriver CR *et al.* (editores). McGraw-Hill, 1989.
[1] El número de banda se refiere a la posición de migración en la SDS-PAGE (fig. 52-4). Las glucoforinas se detectan mediante tinción con el reactivo ácido peryódico de Schiff. Varios otros componentes (p. ej., 4.2 y 4.9) no se listan. La espectrina natural es $\alpha_2\beta_2$.

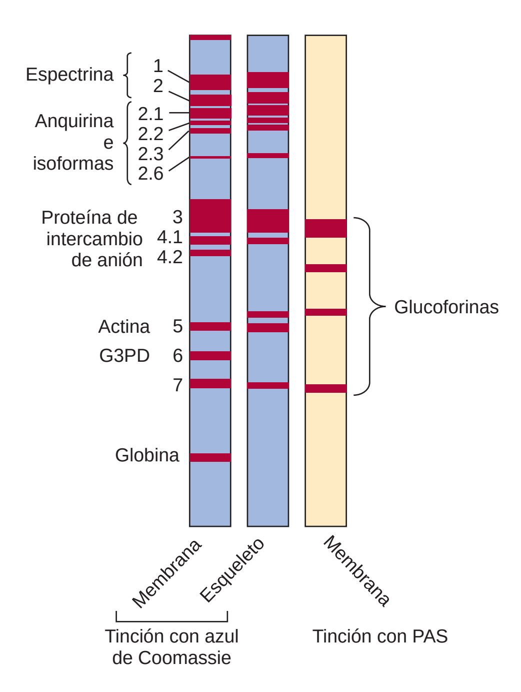


FIGURA 52-4 Representación esquemática de las principales proteínas de la membrana del eritrocito de ser humano separadas mediante SDS-PAGE. En los dos canales izquierdos se muestran las bandas detectadas mediante tinción con azul de Coomassie, y en el canal derecho, las glucoproteínas detectadas mediante tinción con reactivo ácido peryódico de Schiff (PAS). (Reproducida, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. En: *Hematology*, 5th ed. Beck WS [editor]. The MIT Press, 1991.)

migración más lenta (y, por ende, la de masa molecular más alta) se designa banda 1 o **espectrina**. Se han aislado todas estas proteínas principales, casi todas se han identificado, y se ha obtenido información considerable acerca de sus funciones (cuadro 52-8).

También se han establecido muchas de sus secuencias de aminoácidos. Además, se ha determinado cuáles son proteínas de membrana integrales o periféricas, cuáles están situadas sobre la superficie externa, cuáles están en la superficie citosólica, y cuáles abarcan la membrana (fig. 52-5). Asimismo, pueden detectarse muchos componentes menores en la membrana del eritrocito mediante el uso de métodos de tinción sensibles o electroforesis en gel bidimensional. Uno de éstos es el transportador de glucosa antes descrito.

Las proteínas integrales principales de la membrana del eritrocito son la proteína de intercambio de anión y las glucoforinas

La **proteína de intercambio de anión (banda 3)** es una glucoproteína transmembrana, con su extremo carboxilo terminal sobre la superficie externa de la membrana, y su extremo amino terminal sobre la superficie citoplásmica. Es un ejemplo de proteína de membrana de **múltiples pasos**, que se extiende a través de la bicapa

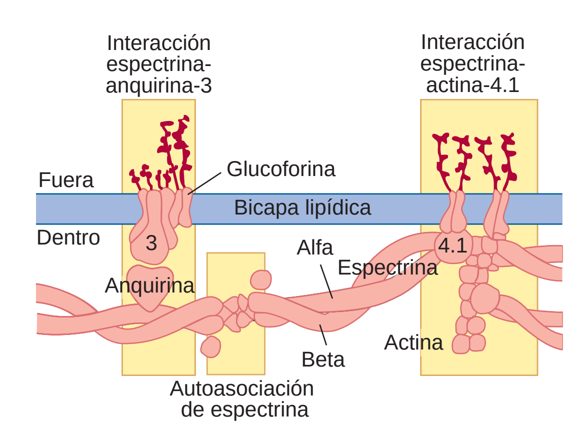


FIGURA 52-5 Representación esquemática de la interacción de proteínas del citoesqueleto entre sí y con ciertas proteínas integrales de la membrana del eritrocito. (Reproducida, con autorización, de Beck WS, Tepper RI: Hemolytic anemias III: membrane disorders. En: *Hematology*, 5th ed. Beck WS [editor]. The MIT Press, 1991.)

alrededor de 14 veces. Probablemente existe como un dímero en la membrana, en la cual forma un túnel, que permite el intercambio de cloro por bicarbonato. El dióxido de carbono, que se forma en los tejidos, entra en el eritrocito como bicarbonato, que se intercambia por cloruro en los pulmones, donde se exhala el dióxido de carbono. El extremo amino terminal se une a muchas proteínas, entre ellas hemoglobina, proteínas 4.1 y 4.2, anquirina, y varias enzimas glucolíticas. La banda 3 purificada se ha añadido a vesículas de lípido *in vitro*, y se ha mostrado que desempeña sus funciones de transporte en este sistema reconstituido.

Las **glucoforinas A**, **B y C** también son glucoproteínas transmembrana, pero del tipo de **un solo paso**; se extienden a través de la membrana sólo una vez. La A es la principal glucoforina; consta de 131 aminoácidos, y está densamente glucosilada (alrededor de 60% de su masa). Su extremo amino terminal, que contiene 16 cadenas de oligosacárido (15 de las cuales son O-glucanos), sobresale desde la superficie del eritrocito. Alrededor de 90% del ácido siálico de la membrana del eritrocito está localizado en esta proteína. Su segmento transmembrana (23 aminoácidos) es α-helicoidal. El extremo carboxilo terminal se extiende hacia el citosol y se une a la proteína 4.1, que a su vez se une a la espectrina. El **polimorfismo** de esta proteína es el fundamento del sistema de grupo sanguíneo MN (véase más adelante). La glucoforina A contiene sitios de unión para virus de la gripe y para *Plasmodium falciparum*, la causa de una forma de paludismo. Es interesante que en individuos que carecen de glucoforina no parece haber afección de la función de los eritrocitos.

La espectrina, anquirina y otras proteínas de membrana periféricas ayudan a determinar la forma y flexibilidad del eritrocito

El eritrocito debe tener la capacidad de pasar a través de algunos sitios estrechos en la microcirculación durante sus muchos recorridos por todo el cuerpo; los sinusoides del bazo tienen especial importancia a este respecto. Para que el eritrocito sea fácilmente **deformable**, y para que la deformación sea reversible, su membrana debe ser tanto fluida como flexible; también debe preservar su forma bicóncava, dado que esto facilita el intercambio de gases. Los **lípidos** de membrana ayudan a determinar la fluidez de membrana. Fijas a la cara interna de la membrana del eritrocito hay muchas **proteínas citoesqueléticas periféricas** (cuadro 52-8) que desempeñan funciones importantes respecto a la preservación de la forma y flexibilidad; a continuación se describirán éstas.

La **espectrina** es la principal proteína del citoesqueleto. Está compuesta de dos polipéptidos: espectrina 1 (cadena α) y espectrina dos (cadena β). Estas cadenas, que miden aproximadamente 100 nm de longitud, muestran alineación antiparalela, están laxamente entremezcladas, y forman un dímero. Ambas cadenas están hechas de segmentos de 106 aminoácidos que parecen plegarse hacia las espirales α-helicoidales de triple cadena unidas por segmentos no helicoidales. Un dímero interactúa con otro, formando un tetrámero de cabeza a cabeza. La forma general confiere **flexibilidad** a la proteína y, a su vez, a la membrana del eritrocito. Pueden definirse al menos cuatro **sitios de unión** en la espectrina: 1) para autoasociación; 2) para anquirina (bandas 2.1, etc.); 3) para actina (banda 5), y 4) para proteína 4.1.

La **anquirina** es una proteína de forma piramidal que se une a la **espectrina**. A su vez, la anquirina se une de manera estrecha a la banda 3, lo que asegura la fijación de la espectrina a la membrana. La anquirina es sensible a proteólisis, lo que explica la aparición de las bandas 2.2, 2.3 y 2.6, todas las cuales se derivan de la banda 2.1.

La **actina** (banda 5) existe en los eritrocitos como filamentos de doble hélice, cortos, de actina F. El extremo cola de dímeros de espectrina se une a actina. Esta última también se une a la proteína 4.1.

La **proteína 4.1**, una proteína globular, se une de manera estrecha al extremo cola de la espectrina, cerca del sitio de unión a actina de esta última y, así, es parte de un complejo ternario de proteína 4.1-espectrina-actina. La proteína 4.1 también se une a las proteínas integrales, glucoforinas A y C, lo que fija el complejo ternario a la membrana. Además, la proteína 4.1 puede interactuar con ciertos fosfolípidos de membrana, lo que conecta la bicapa lipídica al citoesqueleto.

Algunas otras proteínas (4.9, aducina y tropomiosina) también participan en el **montaje del citoesqueleto**.

Las anormalidades de la cantidad o la estructura de la espectrina causan esferocitosis y eliptocitosis hereditarias

La **esferocitosis hereditaria** es una enfermedad genética, de transmisión autosómica dominante, que afecta a alrededor de 1:5 000 habitantes de Norteamérica. Se caracteriza por la presencia de esferocitos (eritrocitos esféricos, con proporción baja entre superficie y volumen) en la sangre periférica, por una **anemia hemolítica** (fig. 52-3), y por esplenomegalia. Los esferocitos no son tan deformables como los eritrocitos normales, y están sujetos a destrucción en el bazo, lo que acorta mucho su vida en la circulación. La esferocitosis hereditaria es **curable mediante esplenectomía** porque los esferocitos pueden persistir en la circulación en ausencia del bazo.

Los esferocitos son mucho más susceptibles a lisis osmótica que los eritrocitos normales. Esto se evalúa en la **prueba de fragili-**

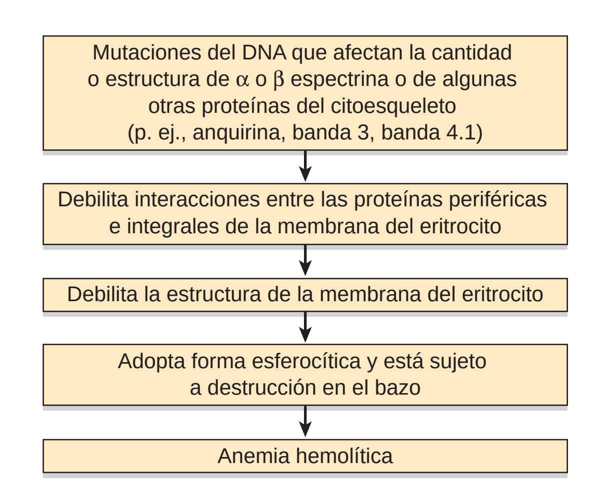


FIGURA 52-6 Resumen de la causa de la esferocitosis hereditaria (OMIM 182900). Alrededor de 50% de los casos se debe a anormalidades de la anquirina, y 25%, a anormalidades de la espectrina.

dad osmótica, en la cual los eritrocitos quedan expuestos *in vitro* a concentraciones decrecientes de NaCl. La concentración fisiológica de NaCl es de 0.85 g/dl. Cuando quedan expuestos a una concentración de NaCl de 0.5 g/dl, muy pocos eritrocitos normales muestran hemólisis, mientras que alrededor de 50% de los esferocitos mostrarían lisis en estas condiciones. La explicación es que el esferocito, al ser casi circular, tiene poco volumen extra potencial para adaptar agua adicional y, así, se lisa con facilidad cuando queda expuesto a una presión osmótica un poco más baja que lo normal.

Una **causa** de la esferocitosis hereditaria (fig. 52-6) es una deficiencia de la cantidad de **espectrina** o anormalidades de su estructura, de modo que ya no se une de manera estrecha a las otras proteínas con las cuales normalmente interactúa. Esto debilita la membrana y lleva a la forma esferocítica. Las anormalidades de la **anquirina** y de las **bandas 3**, **4.1** y **4.2** están comprendidas en otros casos.

La **eliptocitosis hereditaria** es un trastorno genético similar a la esferocitosis hereditaria, salvo porque los eritrocitos afectados adoptan una forma elíptica, discoide, reconocible mediante microscopia. También se debe a anormalidades de la **espectrina**; algunos casos reflejan anormalidades de la banda **4.1** o de la **glucoforina C**.

SE HAN ESTABLECIDO LAS BASES BIOQUÍMICAS DEL SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO

Se han reconocido alrededor de 30 **sistemas de grupo sanguíneo** en seres humanos, los mejor conocidos de los cuales son los sistemas **ABO**, **Rh (Rhesus)** y **MN**. El término **"grupo sanguíneo"** se aplica a un sistema definido de antígenos eritrocíticos (sustancias de grupo sanguíneo) controlados por un *locus* genético que tiene un número variable de alelos (p. ej., A, B y O en el sistema ABO). El término **"tipo sanguíneo"** se refiere al fenotipo antigénico, por lo general reconocido mediante el uso de anticuerpos apropiados. Para propósitos de transfusión de sangre, tiene particular importancia conocer los aspectos básicos de los sistemas **ABO** y **Rh**. Sin embargo, el conocimiento de los sistemas de grupo sanguíneo también tiene interés bioquímico, genético, inmunológico, antropológico, obstétrico, patológico y forense. Aquí sólo se comentarán algunas de las características clave del sistema **ABO**. Desde un punto de vista bioquímico, los principales intereses por las sustancias ABO han estribado en aislar y determinar su estructura, dilucidar sus vías de biosíntesis, y determinar la naturaleza de los productos de los genes A, B y O.

El sistema ABO tiene importancia crucial en la transfusión de sangre

Este sistema fue descubierto por Landsteiner en 1900 cuando estaba investigando la base de transfusiones compatibles e incompatibles en seres humanos. La membrana de los eritrocitos de la mayoría de los individuos contiene una sustancia de grupo sanguíneo del tipo A, tipo B, tipo AB o tipo O. Los individuos del **tipo A** tienen anticuerpos anti-B en el plasma y, así, aglutinarán sangre tipo B o tipo AB. Los individuos **tipo B** tienen anticuerpos anti-A, y aglutinarán sangre tipo A o tipo AB. La sangre **tipo AB** no tiene anticuerpos anti-A ni anti-B, y se ha designado el **receptor universal**. La sangre **tipo O** no tiene sustancias A ni B, y se ha designado el **donador universal**. La explicación de estos datos se relaciona con el hecho de que el cuerpo por lo general no produce anticuerpos contra sus propios constituyentes. De este modo, los individuos de tipo A no producen anticuerpos contra su propia sustancia de grupo sanguíneo, A, pero poseen anticuerpos contra la sustancia de grupo sanguíneo extraña, B, posiblemente porque hay estructuras similares en microorganismos a los cuales el cuerpo queda expuesto en etapas tempranas de la vida. Dado que los individuos de tipo O no tienen sustancias A ni B, poseen anticuerpos contra estas dos sustancias extrañas. La descripción anterior se ha simplificado considerablemente; por ejemplo, hay dos subgrupos del tipo A: A_1 y A_2.

Los genes de los cuales depende la producción de las sustancias ABO están presentes en el brazo largo del cromosoma 9. Hay **tres alelos**, dos de los cuales son codominantes (A y B) y el tercero (O), recesivo; éstos finalmente determinan los cuatro productos fenotípicos: las sustancias A, B, AB y O.

Las sustancias ABO son glucoesfingolípidos y glucoproteínas que comparten cadenas de oligosacárido

Las **sustancias ABO** son oligosacáridos complejos presentes en casi todas las células del cuerpo y en ciertas secreciones. Sobre membranas de los eritrocitos, los oligosacáridos que determinan las naturalezas específicas de las sustancias ABO parecen estar en su mayor parte presentes en **glucoesfingolípidos**, mientras que en secreciones los mismos oligosacáridos están presentes en **glucoproteínas**. Su presencia en secreciones está determinada por un gen designado ***Se*** (de **secretor**), que codifica para una **fucosil (Fuc) transferasa** específica en órganos secretorios, como las glándulas exocrinas, pero que no es activo en eritrocitos. Los individuos de genotipos *SeSe* o *Sese* secretan antígenos A o B (o ambos), mientras que los del genotipo *sese* no secretan sustancias A o B, pero sus eritrocitos pueden expresar los antígenos A y B.

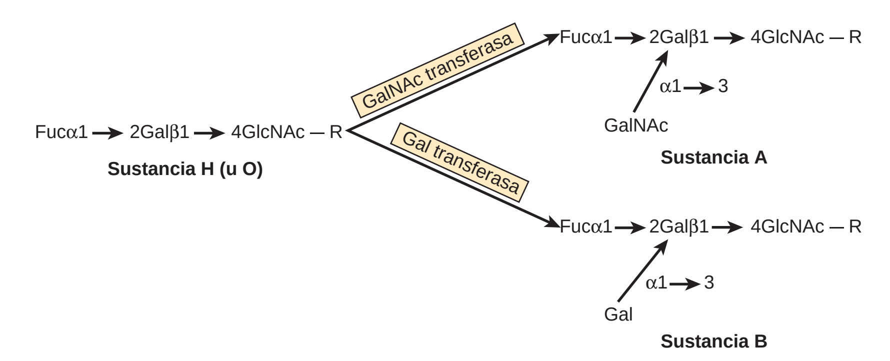


FIGURA 52-7 Representación esquemática de las estructuras de las sustancias de grupo sanguíneo H, A y B. R representa una cadena de oligosacárido compleja larga, unida a ceramida, donde las sustancias son glucoesfingolípidos, o al esqueleto polipeptídico de una proteína mediante un residuo serina o treonina, donde las sustancias son glucoproteínas. Nótese que las sustancias de grupo sanguíneo son biantenarias; esto es, tienen dos extremos, que se forman en un punto de ramificación (que no se indica) entre el GlcNAc—R, y sólo se muestra un brazo de la rama. De este modo, las sustancias H, A y B contienen, cada una, dos de sus cadenas de oligosacárido cortas respectivas mostradas arriba. La sustancia AB contiene una cadena tipo A y una tipo B.

La sustancia H es el precursor biosintético de las sustancias tanto A como B

Las sustancias ABO se han aislado, y se ha determinado su estructura; en la figura 52-7 se presentan versiones simplificadas, que sólo muestran sus extremos no reductores. Tiene importancia apreciar primero la estructura de la **sustancia H**, puesto que es el precursor de las sustancias tanto A como B, y es la sustancia de grupo sanguíneo que se encuentra en personas de tipo O. La sustancia H en sí se forma mediante la acción de una **fucosiltransferasa**, que cataliza la adición de la fucosa terminal en enlace α1 → 2 sobre el residuo Gal terminal de su precursor:

$$\underset{\text{Precursor}}{\text{GDP - Fuc + Gal- }\beta\text{ - R}} \rightarrow \underset{\text{Sustancia H}}{\text{Fuc - }\alpha1{,}2\text{ - Gal- }\beta\text{ - R}} + \text{GDP}$$

El *locus* H codifica para esta fucosiltransferasa. El alelo *h* del *locus* H codifica para una fucosil transferasa inactiva; por ende, los individuos del genotipo *hh* no pueden generar sustancia H, el precursor de los antígenos A y B. De este modo, los individuos del fenotipo *hh* tendrán eritrocitos del tipo O, aun cuando quizá posean las enzimas necesarias para producir las sustancias A o B (véase más adelante). Se dice que son del fenotipo Bombay (O_h).

El gen *A* codifica para una GalNAc transferasa, el gen *B* para una Gal transferasa, y el gen *O* para un producto inactivo

En comparación con la sustancia H (fig. 52-7), la **sustancia A** contiene un GalNAc adicional, y la **sustancia B** un Gal adicional, enlazados como se indica. Los anticuerpos anti-A se dirigen contra el residuo GalNAc adicional que se encuentra en la sustancia A, y los anticuerpos anti-B se dirigen hacia el residuo Gal adicional que se encuentra en la sustancia B. De este modo, GalNAc es el **azúcar inmunodominante** (esto es, el que determina la especificidad del anticuerpo formado) de la sustancia del grupo sanguíneo A, mientras que Gal es el azúcar inmunodominante de la sustancia B. En vista de los datos estructurales, no sorprende que la sustancia A pueda sintetizarse *in vitro* a partir de la sustancia O en una reacción catalizada por una GalNAc transferasa, en la que se emplea UDP-GalNAc como el azúcar donador. De modo similar, el grupo sanguíneo B puede sintetizarse a partir de la sustancia O mediante la acción de una Gal transferasa, que emplea UDP-Gal. Es crucial apreciar que el producto del gen *A* es la **GalNAc transferasa** que añade la terminal GalNAc a la sustancia O. De modo similar, el producto del gen *B* es la **Gal transferasa** que añade el residuo Gal a la sustancia O. Los individuos del **tipo AB** poseen ambas enzimas y, así, tienen dos cadenas de oligosacárido (fig. 52-6), una determinada por un GalNAc, y la otra por un Gal. Los individuos del tipo O al parecer sintetizan una proteína inactiva, detectable por medios inmunológicos; de este modo, la sustancia H es su sustancia de grupo sanguíneo ABO.

En 1990, en un estudio en el que se usó tecnología de clonación y secuenciación, se describió la naturaleza de las diferencias entre los productos glucosiltransferasa de los genes *A, B* y *O*. Una diferencia de cuatro nucleótidos al parecer es la causa de las especificidades distintas de las glucosiltransferasas A y B. Por otro lado, el alelo *O* tiene una mutación de par de base único, lo que causa una **mutación por cambio de cuadro**, lo que da por resultado una proteína que carece de actividad de transferasa.

LOS NEUTRÓFILOS TIENEN UN METABOLISMO ACTIVO, Y CONTIENEN VARIAS ENZIMAS Y PROTEÍNAS SINGULARES

En el cuadro 52-9 se resumen las principales características bioquímicas de los **neutrófilos**. Las características prominentes son glucólisis aeróbica activa, vía de la pentosa fosfato activa, fosforilación

CUADRO 52-9 Resumen de las principales características bioquímicas de los neutrófilos

• Glucólisis activa
• Vía de la pentosa fosfato activa
• Fosforilación oxidativa moderada
• Ricos en lisosomas y sus enzimas degradantes
• Contienen ciertas enzimas (p. ej., mieloperoxidasa y NADPH oxidasa) y proteínas singulares
• Contienen integrinas CD11/CD18 en la membrana plasmática

oxidativa moderadamente activa (porque las mitocondrias son relativamente escasas), y contenido alto de enzimas lisosómicas. Muchas de las enzimas que se listan en el cuadro 52-5 también tienen importancia en el metabolismo oxidativo de neutrófilos (véase más adelante). En el cuadro 52-10 se resumen las funciones de algunas proteínas que son relativamente singulares para los neutrófilos.

Los neutrófilos son participantes clave en la defensa del cuerpo contra la infección bacteriana

Los **neutrófilos** son células fagocíticas móviles del sistema inmunitario innato que desempeñan una función clave en la inflamación aguda. Cuando entran bacterias en los tejidos, sobrevienen varios fenómenos que se conocen en conjunto como la "respuesta inflamatoria aguda". Incluyen: 1) aumento de la permeabilidad vascular; 2) entrada de neutrófilos activados en los tejidos; 3) activación de plaquetas, y 4) resolución espontánea si se ha luchado exitosamente con los microorganismos invasores.

Varias de las moléculas se liberan a partir de células y proteínas plasmáticas durante la inflamación aguda, cuyo efecto general neto es aumentar la permeabilidad vascular, lo que da por resultado edema de tejido (cuadro 52-11).

En la inflamación aguda, los neutrófilos se reclutan desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos para ayudar a eliminar los invasores extraños. Los neutrófilos son atraídos hacia los tejidos por **factores quimiotácticos**, entre ellos el fragmento de complemento

CUADRO 52-10 Algunas enzimas y proteínas importantes de neutrófilos[1]

Enzima o proteína	Reacción o función catalizada	Comentario
Mieloperoxidasa (MPO)	$H_2O_2 + X^-$ (halide) + $H^+ \rightarrow$ HOX + H_2O (donde $X^- = Cl^-$, HOX = ácido hipocloroso)	Imparte el color verde al pus La deficiencia genética puede causar infecciones recurrentes
NADPH oxidasa	$2O_2$ + NADPH $\rightarrow 2O_2^{\cdot -}$ + NADP + H^+	Componente clave de la explosión respiratoria Deficiente en la enfermedad granulomatosa crónica
Lisozima	Hidroliza el enlace entre ácido *N*-acetilmurámico, y *N*-acetil-D-glucosamina que se encuentra en ciertas paredes de células bacterianas	Abundante en macrófagos
Defensinas	Péptidos antibióticos básicos de 20 a 33 aminoácidos	Al parecer mata bacterias al causar daño de membrana
Lactoferrina	Proteína de unión a hierro	Puede inhibir el crecimiento de ciertas bacterias al unirse a hierro, y quizá participe en la regulación de la proliferación de células mieloides
CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11c/CD18[2]	Moléculas de adherencia (miembros de la familia de integrina)	Escasos en la deficiencia de adherencia de leucocitos tipo I (OMIM 116920)
Receptores para fragmentos Fc de IgG	Se une a fragmentos Fc de moléculas de IgG	Dirigen complejos de antígeno-anticuerpo a células mieloides y linfoides, lo que desencadena fagocitosis y otras respuestas

[1] La expresión de muchas de estas moléculas se ha estudiado durante las diversas etapas de diferenciación de los neutrófilos normales y de las células leucémicas correspondientes con técnicas de biología molecular (p. ej., mediciones de sus mRNA específicos). Para la mayoría, se han aislado y secuenciado cDNA, deducido sus secuencias de aminoácidos, localizado los genes a lugares específicos de los cromosomas, y definido los exones e intrones. En el cuadro 52-13 se listan algunas proteinasas importantes de los neutrófilos.
[2] CD = agrupación de diferenciación. Esto se refiere a un sistema de nomenclatura uniforme que se ha adoptado para nombrar marcadores de superficie de leucocitos. Una proteína de superficie específica (marcador) que identifica a una línea o etapa de diferenciación de leucocitos particular, y que es reconocida por un grupo de anticuerpos monoclonales, se llama un miembro de una agrupación de diferenciación. El sistema es en especial útil para categorizar las subclases de linfocitos. Muchos antígenos CD participan en interacciones entre una célula y otra, la adherencia y la emisión de señales transmembrana.

CUADRO 52-11 Fuentes de biomoléculas con propiedades vasoactivas involucradas en la inflamación aguda

Células cebadas y basófilos	Plaquetas	Neutrófilos	Proteínas plasmáticas
Histamina	Serotonina	Factor activador de plaquetas (PAF)	C3a, C4a y C5a del sistema de complemento
		Eicosanoides (diversas prostaglandinas y leucotrienos)	Bradicinina y productos de degradación de fibrina del sistema de la coagulación

C5a, péptidos pequeños derivados de bacterias (p. ej., *N*-formilmetionil-leucil-fenilalanina), y varios leucotrienos. Para llegar a los tejidos, los neutrófilos circulantes deben pasar por los capilares. Para lograr esto, se marginan a lo largo de las paredes del vaso, y después se adhieren a las células epiteliales (de revestimiento) de los capilares.

Las integrinas median la adherencia de neutrófilos a células endoteliales

La **adherencia de neutrófilos** a células endoteliales emplea proteínas adhesivas específicas **(integrinas)** localizadas sobre su superficie, y proteínas receptoras específicas en las células endoteliales. (Véase también la exposición sobre selectinas en el cap. 47.)

Las **integrinas** son una superfamilia de proteínas de superficie presentes en una amplia variedad de células. Participan en la **adherencia** de células a otras células o a componentes específicos de la matriz extracelular. Son **heterodímeros**, que contienen una subunidad α y una β enlazadas de manera no covalente. Las subunidades contienen segmentos extracelular, transmembrana e intracelular. Los **segmentos extracelulares** se unen a diversos ligandos, como proteínas específicas de la matriz extracelular, y de las superficies de otras células. Estos ligandos a menudo contienen secuencias ArgGli-Asp (R-G-D). Los **dominios intracelulares** se unen a diversas proteínas del citoesqueleto, como actina y vinculina. Las integrinas son proteínas que **enlazan los exteriores de las células a sus interiores**, lo que ayuda a integrar respuestas de células (p. ej., movimiento, fagocitosis) a cambios en el ambiente.

Inicialmente se reconocieron tres **subfamilias** de integrinas. Los miembros de cada subfamilia se distinguieron por contener una subunidad β común, pero difirieron en sus subunidades. Sin embargo, ahora se han identificado más de tres subunidades β, y la clasificación de las integrinas se ha hecho más bien compleja. En el cuadro 52-12 se listan algunas integrinas de interés específico respecto a neutrófilos.

Una deficiencia de la subunidad β_2 (también designada CD18) de LFA-1, y de dos integrinas relacionadas que se encuentran en neutrófilos y macrófagos, Mac-1 (CD11b/CD18) y p150,95 (CD11c/CD18), causa **deficiencia de adherencia de leucocitos tipo 1**, una enfermedad caracterizada por infecciones bacterianas y micóticas recurrentes. Entre diversos resultados de esta deficiencia, la adherencia de los leucocitos afectados a células endoteliales está disminuida y, de este modo, números menores de neutrófilos entran en los tejidos para combatir infección.

Una vez que han pasado a través de las paredes de vasos sanguíneos de pequeño calibre, los neutrófilos migran hacia las concentraciones más altas de los factores quimiotácticos, encuentran las bacterias invasoras, e intentan atacarlas y destruirlas. Los neutrófilos deben estar **activados** para que se activen muchos de los procesos metabólicos involucrados en la fagocitosis y la muerte de bacterias.

La activación de neutrófilos es similar a la activación de plaquetas, y comprende hidrólisis de fosfatidilinositol bisfosfato

Los mecanismos involucrados en la activación de plaquetas se comentan en el capítulo 51 (fig. 51-8). El proceso comprende interacción del estímulo (p. ej., trombina) con un receptor, activación de proteínas G, estimulación de fosfolipasa C, y liberación desde fosfatidilinositol bisfosfato de trifosfato de inositol y diacilglicerol. Estos dos segundos mensajeros dan por resultado un aumento del Ca^{2+} intracelular y activación de la proteína cinasa C. Además, la activación de la fosfolipasa A_2 produce ácido araquidónico que puede convertirse en diversos eicosanoides que tienen actividad biológica.

El proceso de **activación de neutrófilos** es en esencia similar. Se activan, mediante receptores específicos, por interacción con bacterias, unión de factores quimiotácticos, o complejos de antígeno-anticuerpo. El **aumento** resultante del **Ca^{2+} intracelular** afecta muchos procesos en neutrófilos, como el montaje de microtúbulos y el sistema de actina-miosina. Estos procesos participan, respectivamente, en la secreción del contenido de gránulos, y en la motilidad, que permite a los neutrófilos buscar a los invasores. Los neutrófilos activados ahora se encuentran listos para destruir a los invasores mediante mecanismos que incluyen producción de derivados activos de oxígeno.

CUADRO 52-12 Ejemplos de integrinas importantes en la función de neutrófilos, de otros leucocitos, y de plaquetas[1]

Integrina	Célula	Subunidad	Ligando	Función
VLA-1 (CD49a)	Leucocitos, otras	α1β1	Colágeno, laminina	Adherencia de célula-ECM
VLA-5 (CD49e)	Leucocitos, otras	α5β1	Fibronectina	Adherencia de célula-ECM
VLA-6 (CD49f)	Leucocitos, otras	α6β1	Laminina	Adherencia de célula-ECM
LFA-1 (CD11a)	Leucocitos	αLβ2	ICAM-1	Adherencia de leucocitos
Glucoproteína IIb/IIIa	Plaquetas	αIIbβ3	ICAM-2	
Fibrinógeno, fibronectina, factor de von Willebrand	Adherencia y agregación plaquetarias			

[1]LFA-1, antígeno relacionado con la función de linfocitos 1; VLA, antígeno muy tardío; CD, agrupación de diferenciación; ICAM, molécula de adherencia intercelular; ECM, matriz extracelular. Una deficiencia de LFA-1 y de integrinas relacionadas se encuentra en la deficiencia de adherencia de leucocito tipo I (OMIM 116920). Una deficiencia del complejo de glucoproteína plaquetario IIb/IIIa se encuentra en la trombastenia de Glanzmann (OMIM 273800), enfermedad caracterizada por historial de hemorragia, recuento plaquetario normal, y retracción anormal del coágulo. Estos datos ilustran cómo el conocimiento fundamental de las proteínas de adherencia de superficie celular está aclarando la causa de varias enfermedades.

La explosión respiratoria de las células fagocíticas comprende NADPH oxidasa, y ayuda a matar bacterias

Cuando los neutrófilos y otras células fagocíticas fagocitan bacterias, muestran un rápido aumento del consumo de oxígeno, conocido como la **explosión respiratoria**. Este fenómeno refleja la utilización rápida de oxígeno (después de un retraso de 15 a 60 segundos) y producción a partir del mismo de grandes cantidades de **derivados reactivos**, como $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2, $OH^{\bullet}$ y OCl^- (ion hipoclorito). Algunos de estos productos son potentes agentes microbicidas.

El **sistema de cadena de transporte de electrón** que se encarga de la explosión respiratoria (llamado NADPH oxidasa) consta de varios componentes. Uno es el **citocromo *b*$_{558}$**, ubicado en la membrana plasmática; es un heterodímero, que contiene dos polipéptidos de 91 y 22 kDa. Cuando el sistema se activa (véase más adelante), dos polipéptidos citoplásmicos de 47 y 67 kDa se reclutan hacia la membrana plasmática y, junto con el citocromo b_{558}, forman la **NADPH oxidasa** que se encarga de la explosión respiratoria. La reacción catalizada por NADPH oxidasa, que comprende la formación de anión superóxido, se muestra en el cuadro 52-5 (reacción 2). Este sistema cataliza la reducción de un electrón de oxígeno hacia anión superóxido. El NADPH se genera principalmente mediante el ciclo de la pentosa fosfato, cuya actividad aumenta de manera notoria durante la fagocitosis.

La reacción anterior va seguida por la producción espontánea (por dismutación espontánea) de **peróxido de hidrógeno** a partir de dos moléculas de superóxido:

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

El **ion superóxido** se descarga hacia el exterior de la célula o hacia fagolisosomas, donde encuentra bacterias ingeridas. La muerte de bacterias dentro de fagolisosomas parece depender de la acción combinada de pH alto, ion superóxido, o derivados de oxígeno adicionales (H_2O_2, $OH^{\bullet}$ y HOCl [ácido hipocloroso; véase más adelante]) y de la acción de ciertos péptidos bactericidas (defensinas) y otras proteínas (p. ej., catepsina G y ciertas proteínas catiónicas) presentes en células fagocíticas. Cualquier superóxido que entra en el citosol de las células fagocíticas se convierte en H_2O_2 mediante la acción de la **superóxido dismutasa**, que cataliza la misma reacción que la dismutación espontánea antes mostrada. A su vez, el H_2O_2 es usado por la mieloperoxidasa (véase más adelante) o se elimina por medio de la acción de la glutatión peroxidasa o la catalasa.

La **NADPH oxidasa** es inactiva en células fagocíticas en reposo, y **se activa** en el momento del contacto con diversos ligandos (fragmento C5a del complemento, péptidos quimiotácticos, etc.) con receptores en la membrana plasmática. Los eventos que dan por resultado la activación del sistema de oxidasa se han estudiado mucho, y son similares a los antes descritos para el proceso de activación de neutrófilos. Comprenden **proteínas G**, activación de **fosfolipasa C**, y generación de **1,4,5-trifosfato de inositol** (IP_3). Este último media un aumento transitorio de la concentración de Ca^{2+} citosólico, que es esencial para la inducción de la explosión respiratoria. También se genera **diacilglicerol** e induce la translocación de la proteína cinasa C hacia la membrana plasmática desde el citosol, donde cataliza la **fosforilación** de diversas proteínas, algunas de las cuales son componentes del sistema de oxidasa. También opera una segunda vía de activación que no comprende Ca^{2+}.

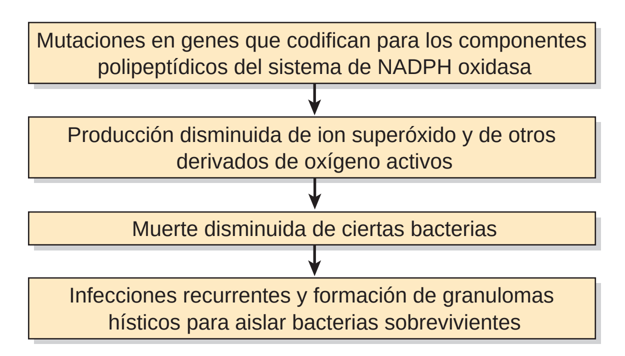


FIGURA 52-8 Esquema simplificado de la secuencia de eventos involucrados en la causa de la enfermedad granulomatosa crónica (OMIM 306400). Las mutaciones en cualquiera de los genes que codifican para los cuatro polipéptidos involucrados (dos son componentes del citocromo b_{558} y dos se derivan del citoplasma) pueden causar la enfermedad. El polipéptido de 91 kDa es codificado por un gen en el cromosoma X; alrededor de 60% de los casos de enfermedad granulomatosa crónica está ligado a X; el resto se hereda de manera autosómica recesiva.

Las mutaciones en los genes que codifican para componentes del sistema de NADPH oxidasa causan enfermedad granulomatosa crónica

La importancia del **sistema de NADPH oxidasa** se demostró con claridad cuando se observó que la explosión respiratoria era defectuosa en la **enfermedad granulomatosa crónica**, padecimiento relativamente raro caracterizado por infecciones recurrentes y granulomas diseminados (lesiones inflamatorias crónicas) en la piel, los pulmones y los ganglios linfáticos. Los granulomas se forman en un intento por aislar bacterias que no han muerto, debido a deficiencias genéticas en el sistema de NADPH oxidasa. El trastorno se debe a mutaciones en los genes que codifican para los cuatro polipéptidos que constituyen el sistema de NADPH oxidasa. Algunos pacientes han mostrado respuesta al tratamiento con interferón-γ, que puede aumentar la transcripción del componente de 91 kDa si está afectado. Se están haciendo intentos por crear terapia génica para esta enfermedad. En la figura 52-8 se muestra la probable secuencia de eventos comprendidos en la causa de la enfermedad granulomatosa crónica.

Los neutrófilos contienen mieloperoxidasa, que cataliza la producción de oxidantes clorados

La enzima **mieloperoxidasa**, presente en grandes cantidades en gránulos de neutrófilos, y que imparte el color verde al pus, puede actuar sobre el H_2O_2 para producir ácidos hipohalosos:

$$H_2O_2 + X^- + H^+ \xrightarrow{\text{MIELOPEROXIDASA}} HOX + H_2O$$

(X^- = Cl^-, Br^-, I^- o SCN^-; HOCl = ácido hipocloroso)

El H_2O_2 que se usa como sustrato se genera mediante el sistema de NADPH oxidasa. El Cl^- es el halido que por lo general se emplea, porque está presente en concentración relativamente alta en el plasma y los líquidos corporales. El **HOCl**, el ingrediente activo del blanqueador líquido doméstico, es un potente oxidante y es altamente microbicida. Cuando se aplica en tejidos normales, su potencial para causar daño disminuye porque reacciona con aminas primarias o secundarias presentes en neutrófilos y tejidos para producir diversos derivados nitrógeno-cloro; estas **cloroaminas** también son oxidantes, aunque menos potentes que el HOCl, y actúan como agentes microbicidas (p. ej., en la esterilización de heridas) sin causar daño de tejidos.

Las proteinasas de neutrófilos pueden causar serio daño de tejido si sus acciones no se controlan

Los neutrófilos contienen varias proteinasas (cuadro 52-13) que pueden hidrolizar la elastina, diversos tipos de colágenos, y otras proteínas presentes en la matriz extracelular. Si se permite que esa acción enzimática proceda sin restricción, puede dar por resultado serio daño de tejidos. Casi todas estas proteínas son **enzimas lisosómicas** y existen principalmente como precursores inactivos en neutrófilos normales. Pequeñas cantidades de estas enzimas se liberan hacia tejidos normales; las cantidades aumentan de manera notoria durante la inflamación. Las actividades de la elastasa y de otras proteinasas en circunstancias normales se mantienen a raya por medio de diversas **antiproteinasas** (que también se listan en el cuadro 52-13) presentes en el plasma y el líquido extracelular. Cada una de ellas se puede combinar —por lo general formando un complejo no covalente— con una o más proteinasas específicas y, así, causar inhibición. En el capítulo 50 se mostró que una deficiencia genética de **inhibidor α_1-antiproteinasa** (α_1-antitripsina) permite que la elastasa actúe sin oposición y digiera tejido pulmonar, lo que participa en la causa del enfisema. La **α_2-macroglobulina** es una proteína plasmática que desempeña una importante función en la defensa del cuerpo contra la acción excesiva de proteasas; se combina con diversas proteasas importantes y, así, neutraliza sus actividades (cap. 50).

Cuando se forman cantidades aumentadas de oxidantes fluorados durante inflamación, afectan el equilibrio entre proteinasa y antiproteinasa, y lo inclinan a favor de la primera. Por ejemplo, algunas de las proteínas que se listan en el cuadro 52-13 se **activan** mediante HOCl, mientras que este compuesto **desactiva** algunas de las antiproteinasas. Además, la elastasa activada puede hidrolizar el inhibidor hístico de metaloproteinasas y la α_1-antiquimotripsina, y la colagenasa y gelatinasa activadas pueden hidrolizar el inhibidor α_1-antiproteinasa. En casi todas las circunstancias, se logra **un equilibrio apropiado** de proteinasas y antiproteinasas. Sin embargo, en ciertas circunstancias, como en el pulmón cuando hay deficiencia de inhibidor α_1-antiproteinasa o cuando grandes cantidades de neutrófilos se acumulan en tejidos debido a drenaje inadecuado, puede sobrevenir considerable **daño de tejido** por la acción de proteinasas sin oposición.

CUADRO 52-13 Proteinasas de neutrófilos y antiproteinasas del plasma y los tejidos[1]

Proteinasas	Antiproteinasas
Elastasa	α_1-Antiproteinasa (α_1-antitripsina)
Colagenasa	α_2-Macroglobulina
Gelatinasa	Inhibidor de leucoproteinasa secretor
Catepsina G	α_1-Antiquimotripsina
Activador del plasminógeno	Inhibidor del activador del plasminógeno-1 Inhibidor hístico de metaloproteinasa

[1] En el cuadro se listan algunas de las proteinasas importantes de neutró□los y algunas de las proteínas que pueden inhibir sus acciones. Casi todas las proteínas listadas existen dentro de neutró□los como precursores. Las proteinasas listadas pueden digerir muchas proteínas de la matriz extracelular, lo que causa daño de tejido. El equilibrio general de la acción de proteinasa:antiproteinasa puede alterarse al activar los precursores de las proteinasas, o al desactivar las antiproteinasas. Esto último puede producirse por degradación proteolítica o modi□cación química, p. ej., el humo de cigarrillos oxida la Met-358 del inhibidor α_1- antiproteinasa

LA TECNOLOGÍA DE DNA RECOMBINANTE HA TENIDO PROFUNDAS REPERCUSIONES SOBRE LA HEMATOLOGÍA

La **tecnología de DNA recombinante** ha tenido repercusiones importantes sobre muchos aspectos de la hematología. Investigaciones en las que se han usado clonación y secuenciación han esclarecido mucho las bases de las **talasemias** y de muchos **trastornos de la coagulación** (cap. 51). El estudio de oncogenes y translocaciones cromosómicas ha aumentado el entendimiento de las **leucemias**. Como se comentó, técnicas de clonación han puesto a disposición cantidades terapéuticas de **eritropoyetina** y **otros factores de crecimiento**. La deficiencia de **adenosina desaminasa**, que afecta a linfocitos en particular, es la primera enfermedad que se trató mediante terapia génica (caso núm. 1, cap. 54). Al igual que muchas otras áreas de la biología y la medicina, esta tecnología ha revolucionado la hematología, y seguirá haciéndolo.

RESUMEN

- Las anemias son estados muy prevalecientes. Las principales causas son pérdida de sangre; de ciencias de hierro, folato y vitamina B_{12}, y diversos factores que causan hemólisis.
- El eritrocito es sencillo en lo que se re ere a su estructura y función; consta principalmente de una solución concentrada de hemoglobina rodeada por una membrana.
- La producción de eritrocitos es regulada por la eritropoyetina, mientras que otros factores de crecimiento (p. ej., factores estimulantes de colonias de granulocitos y de colonias de granulocitos-macrófagos) regulan la producción de leucocitos.
- El eritrocito contiene una batería de enzimas citosólicas, como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, para eliminar los potentes oxidantes (ROS) que se generan durante su metabolismo.
- La de ciencia, determinada por mecanismos genéticos, de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, que produce NADPH, es una importante causa de anemia hemolítica.

- La metahemoglobina es incapaz de transportar oxígeno; se reconocen causas tanto genéticas como adquiridas de metahemoglobinemia.
- Se ha acumulado considerable información respecto a las proteínas y los lípidos de la membrana eritrocítica. Varias proteínas del citoesqueleto, como la espectrina, anquirina y actina, interactúan con proteínas de membrana integrales especí cas para ayudar a regular la forma y la exibilidad de la membrana.
- La de ciencia de espectrina da por resultado esferocitosis hereditaria y eliptocitosis hereditaria, ambas de las cuales causan anemia hemolítica.
- Las sustancias del grupo sanguíneo ABO en la membrana eritrocítica son glucoes ngolípidos complejos; el azúcar inmunodominante de la sustancia A es la *N*-acetil-galactosamina, mientras que el de la sustancia B es la galactosa. La sustancia O no contiene ninguno de estos dos residuos azúcar en los enlaces particulares que se encuentran en las sustancias A y B.
- Los neutró los desempeñan una función importante en los mecanismos de defensa del cuerpo. Las integrinas sobre sus membranas de super cie determinan interacciones especí cas con diversos componentes de células y tejidos.
- Los leucocitos se activan en el momento de la exposición a bacterias y otros estímulos; la NADPH oxidasa desempeña una función clave en el proceso de activación (la explosión respiratoria). Las mutaciones en esta enzima y proteínas relacionadas causan enfermedad granulomatosa crónica.
- Las proteinasas de neutró los pueden digerir muchas proteínas de tejido; en circunstancias normales, esto se mantiene a raya mediante una batería de antiproteinasas. Sin embargo, este mecanismo de defensa puede quedar superado en ciertas circunstancias, lo que da por resultado extenso daño de tejido.
- La aplicación de tecnología de DNA recombinante está revolucionando el campo de la hematología.

REFERENCIAS

Fauci AS et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Chapters 58, 61, & 98–108 deal with various blood disorders. Chapters 66–68 deal with various aspects of hematopoietic and other stem cells.)

ffrench-Constant C, Colognato H: Integrins: versatile integrators of extracellular signals. Trends Cell Biol 2004;14:678.

Hoffman R et al (editors): *Hematology: Basic Principles and Practice,* 4th ed. Elsevier Churchill Livingston, 2005.

Israels LG, Israels ED: *Mechanisms in Hematology,* 3rd ed. Core Health Sciences Inc, 2002.

Scriver CR et al (editors): *The Molecular Bases of Inherited Disease,* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (This text is now available online and updated as *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease* at www.ommbid.com Subscription is required, although access may be available via university and hospital libraries and other sources.) A number of the chapters concern topics described in this chapter.

Yonekawa K, Harlan JM: Targeting leukocyte integrins in human diseases. J Leukoc Biol 2005;77:129.

C A P Í T U L O

53

Metabolismo de xenobióticos

Robert K. Murray, MD, PhD

IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los seres humanos quedan sujetos cada vez más a exposición a diversas sustancias químicas extrañas **(xenobióticos)**: fármacos, aditivos de alimentos, contaminantes, etc. La situación se resume bien en la cita que sigue de Rachel Carson: "Como un arma tan primitiva como el garrote del hombre de las cavernas, el bombardeo químico se ha lanzado contra el tejido de la vida". **El entendimiento de cómo los xenobióticos se manejan en el ámbito celular** es importante para aprender cómo afrontar la arremetida química y, así, ayudar a **preservar el ambiente**. Por ejemplo, con base en esa información, se están haciendo intentos por modificar microorganismos al introducir genes que codifican para diversas enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos específicos hacia productos inocuos. Estos organismos modificados a continuación se usarán para ayudar a eliminar diversos contaminantes del planeta.

El conocimiento del metabolismo de xenobióticos es básico para un entendimiento racional de la farmacología y terapéutica, la farmacia, la toxicología, manejo del cáncer y drogadicción. Todas estas áreas comprenden la administración de xenobióticos o la exposición a los mismos.

LOS SERES HUMANOS ENCUENTRAN MILES DE XENOBIÓTICOS QUE SE DEBEN METABOLIZAR ANTES DE EXCRETARSE

Un **xenobiótico** (del griego *xenos*, "extranjero") es un compuesto que es extraño al cuerpo. Las principales clases de xenobióticos de importancia médica son los **fármacos**, los **carcinógenos químicos** y **diversos compuestos** que se han introducido al ambiente mediante una u otra ruta, como los bifeniles policlorados (PCB) y ciertos insecticidas. Hay más de 200 000 sustancias químicas ambientales manufacturadas. Casi todos estos compuestos quedan sujetos a metabolismo (alteración química) en el cuerpo humano; el hígado es el principal órgano involucrado; en ocasiones, un xenobiótico puede excretarse sin cambios. **Al menos 30 enzimas diferentes** catalizan reacciones comprendidas en el metabolismo de xenobióticos; sin embargo, en este capítulo sólo se cubrirá un grupo selecto de ellas.

Es conveniente considerar el metabolismo de los xenobióticos en dos fases. En la **fase 1**, la principal reacción involucrada es la **hidroxilación**, catalizada principalmente por miembros de una clase de enzimas denominadas **monooxigenasas** o **citocromos P450**. La hidroxilación puede terminar la acción de un fármaco, aunque no siempre sucede así. Además de la hidroxilación, estas enzimas catalizan **una amplia gama de reacciones**, incluso las que comprenden desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxigenación y reducción. En la fase 1 también ocurren reacciones que comprenden hidrólisis (p. ej., catalizadas por esterasas) y algunas otras reacciones no catalizadas por P450.

En la **fase 2**, los compuestos hidroxilados u otros compuestos producidos en la fase 1 se convierten mediante enzimas específicas en **diversos metabolitos polares** por medio de **conjugación** con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión y ciertos aminoácidos, o mediante **metilación**.

El propósito general de las dos fases del metabolismo de xenobióticos es aumentar su **hidrosolubilidad (polaridad)** y, así, la **excreción** desde el cuerpo. Los xenobióticos muy hidrofóbicos persistirían en el tejido adiposo por tiempo casi indefinido si no se convirtieran en formas más polares. En ciertos casos, reacciones metabólicas de fase 1 convierten a los xenobióticos desde compuestos **inactivos** hacia compuestos **con actividad biológica**. En estas circunstancias, los xenobióticos originales se denominan **"profármacos"** o **"procarcinógenos"**. En otros casos, reacciones de fase 1 adicionales (p. ej., reacciones de hidroxilación adicionales) convierten los compuestos activos en formas menos activas o inactivas antes de conjugación. Aún en otros casos, son las mismas reacciones de conjugación las que convierten los productos activos de reacciones de fase 1 en especies menos activas o inactivas, que después se excretan en la orina o la bilis. En muy pocos casos, la conjugación en realidad puede aumentar la actividad biológica de un xenobiótico.

El término **"destoxificación"** a veces se usa para muchas de las reacciones comprendidas en el metabolismo de xenobióticos. Sin embargo, el término no siempre es apropiado porque, como se mencionó, en algunos casos las reacciones a las cuales quedan sujetos los xenobióticos en realidad **aumentan** su actividad biológica y toxicidad.

ISOFORMAS DE CITOCROMO P450 HIDROXILAN MUCHÍSIMOS XENOBIÓTICOS EN LA FASE 1 DE SU METABOLISMO

La **hidroxilación** es la principal reacción involucrada en la fase 1. Las enzimas de las cuales depende se denominan **monooxigenasas** o **citocromos P450**. Se estima que hay alrededor de 57 genes que codifican para citocromo P450 en seres humanos. La reacción catalizada por una monooxigenasa (citocromo P450) es como sigue:

$$RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow R\text{-}OH + H_2O + NADP$$

Donde RH puede representar una variedad muy amplia de xenobióticos, entre ellos fármacos, carcinógenos, plaguicidas, productos del petróleo y contaminantes (como una mezcla de PCB). Además, los **compuestos endógenos**, como ciertos esteroides, eicosanoides, ácidos grasos y retinoides, también son sustratos. Los sustratos por lo general son **lipofílicos** y se vuelven más **hidrofílicos** mediante hidroxilación.

El citocromo P450 se considera el **biocatalítico más versátil** conocido. El mecanismo de reacción real es complejo y ya se describió brevemente (fig. 12-6). Se ha mostrado mediante el uso de $^{18}O_2$ que un átomo de oxígeno entra a R–OH, y un átomo entra a agua. Este destino doble del oxígeno explica la denominación anterior de las monooxigenasas como **"oxidasas de función mixta"**. La reacción catalizada por el citocromo P450 también puede representarse como sigue:

Citocromo P450 reducido → citocromo P450 oxidado

$$RH + O_2 \rightarrow R\text{-}OH + H_2O$$

El citocromo P450 se denomina así porque la enzima se descubrió cuando se notó que preparaciones de **microsomas** que se habían reducido químicamente y después expuesto a monóxido de carbono **mostraban un pico definido en 450 nm**. Los microsomas contienen fragmentos del retículo endoplásmico, donde está ubicado gran parte del contenido del P450 de las células (véase más adelante). Entre las razones por las cuales esta enzima es importante figura el hecho de que **alrededor de 50% de los fármacos que los seres humanos ingieren con frecuencia**, **se metaboliza mediante isoformas de citocromo P450**; estas enzimas también actúan sobre diversos carcinógenos y contaminantes. Los principales citocromos P450 en el metabolismo de fármacos son miembros de las familias CYP1, CYP2 y CYP3 (véase más adelante).

Isoformas del citocromo P450 constituyen una superfamilia de enzimas que contienen hem

Los que siguen son puntos importantes respecto a los citocromos P450.

1. Debido al **gran número de isoformas** (alrededor de 150) que se han descubierto, adquirió importancia tener una **nomenclatura sistemática** para isoformas de P450 y para sus genes. Ahora tal nomenclatura está disponible, se usa ampliamente, y se basa en la homología estructural. El símbolo raíz abreviado CYP denota un citocromo P450. Esto va seguido por un número arábigo que designa la **familia**; los citocromos P450 quedan incluidos en la misma familia si muestran 40% o más de identidad de secuencia de aminoácidos. El número arábigo va seguido por una letra mayúscula que indica la **subfamilia**, si hay dos o más miembros; los P450 están en la misma subfamilia si muestran más de 55% de identidad de secuencia. A continuación se asignan de manera arbitraria números arábigos a P450 **individuales**. De este modo, CYP1A1 denota un citocromo P450 que es miembro de la familia 1 y la subfamilia A, y que es el primer miembro individual de esa subfamilia. La nomenclatura para los **genes** que codifican para citocromos P450 es idéntica a la antes descrita, salvo porque se usan letras cursivas; de este modo, el gen que codifica para CYP1A1 es *CYP1A1*.

2. Al igual que la **hemoglobina**, son hemoproteínas.

3. Están **ampliamente distribuidos a través de especies**, incluso bacterias.

4. Se encuentran en cantidad mayor en **células hepáticas** y enterocitos, pero probablemente están presentes en todos los tejidos. En el hígado y en casi todos los otros tejidos, se encuentran principalmente en las **membranas del retículo endoplásmico liso**, que constituyen parte de la **fracción microsómica** cuando el tejido queda sujeto a fraccionamiento subcelular. En microsomas hepáticos, los citocromos P450 pueden comprender hasta 20% de la proteína total. Los P450 están presentes en casi todos los tejidos, aunque a menudo en cantidades bajas en comparación con el hígado. En las **suprarrenales**, se hallan en las **mitocondrias**, así como en el retículo endoplásmico; las diversas hidroxilasas presentes en ese órgano tienen un papel importante en la biosíntesis de colesterol y esteroides. El sistema de citocromo P450 mitocondrial difiere del sistema microsómico por cuanto usa una flavoproteína enlazada a NADPH, **adrenodoxina reductasa**, y una proteína de hierro-azufre no hem, la **adrenodoxina**. Además, las isoformas de P450 específicas involucradas en la biosíntesis de esteroides por lo general están mucho más restringidas en su especificidad de sustrato.

5. Al menos seis especies diferentes de citocromo P450 se encuentran en el retículo endoplásmico del hígado de ser humano, cada una con **especificidades de sustrato** amplias y un poco superpuestas, y que actúan tanto sobre xenobióticos como sobre compuestos endógenos. Durante los últimos años se han aislado y estudiado con detalle los genes que codifican para muchas isoformas de P450 (tanto de seres humanos como de animales, como la rata). La combinación de ellos, siendo que hay **varios tipos diferentes**, **cada uno con especificidad de sustrato relativamente amplia**, explica por qué la familia de citocromo P450 es capaz de metabolizar miles de sustancias químicas diferentes.

6. El **NADPH**, no el NADH, participa en el mecanismo de reacción del citocromo P450. La enzima que utiliza NADPH para dar el citocromo P450 reducido, que se muestra en el lado izquierdo de la ecuación anterior, se llama **NADPH-citocromo P450 reductasa**. Los electrones se transfieren desde el NADPH hacia la NADPH-citocromo P450 reductasa, y después hacia el citocromo P450. Esto lleva a la **activación reductiva de oxígeno molecular**, y después se inserta un átomo de oxígeno en el sustrato. El **citocromo** b_5, otra hemoproteína que se encuentra en las membranas del retículo endoplásmico liso (cap. 12), puede quedar involucrado como un donador de electrón en algunos casos.

7. Los **lípidos** también son componentes del sistema de citocromo P450. El lípido preferido es la **fosfatidilcolina**, que es el prin-

cipal lípido que se encuentra en las membranas del retículo endoplásmico.

8. Casi todas las isoformas del citocromo P450 son **inducibles**. Por ejemplo, la administración de fenobarbital o de muchos otros fármacos causa hipertrofia del retículo endoplásmico liso y triplicación a cuadruplicación de la cantidad de citocromo P450 en el transcurso de cuatro a cinco días. El mecanismo de inducción se ha estudiado extensamente, y casi siempre comprende **transcripción aumentada de mRNA** para citocromo P450. Sin embargo, ciertos casos de inducción involucran **estabilización de mRNA**, **estabilización de enzima**, u **otros mecanismos** (p. ej., un efecto sobre la traducción).

La inducción de citocromo P450 tiene importantes inferencias clínicas, puesto que es un mecanismo bioquímico de **interacción farmacológica**. Una interacción farmacológica ha ocurrido cuando los efectos de un fármaco se alteran por la administración previa, concurrente o posterior de otro. Como un ejemplo, considérese la situación en la cual un paciente está tomando el anticoagulante **warfarina** para prevenir coagulación de la sangre. Este fármaco se metaboliza mediante **CYP2C9**. Al mismo tiempo, se empieza a tratar al paciente con **fenobarbital** (un inductor de este P450) para combatir un cierto tipo de epilepsia, pero no se modifica la dosis de warfarina. Después de alrededor de cinco días, la concentración de CYP2C9 en el hígado del paciente estará aumentada tres a cuatro veces. Esto a su vez significa que la warfarina se **metabolizará con mucha mayor rapidez que antes**, y su **dosificación se habrá hecho inadecuada**. Por ende, la **dosis se debe aumentar** para que la warfarina tenga eficacia terapéutica. Para proseguir con este ejemplo, podría surgir **un problema** más tarde **si se suspendiera el fenobarbital** pero la dosificación aumentada de warfarina permaneciera igual. El paciente tendrá riesgo de sangrado, puesto que la dosis alta de warfarina será aún más activa que antes, porque la concentración de CYP2C9 declinará una vez que se haya suspendido el fenobarbital.

Otro ejemplo de inducción enzimática comprende el **CYP2E1**, que se induce por consumo de **etanol**. Este es un motivo de preocupación, porque este P450 metaboliza ciertos solventes ampliamente usados, y componentes que se encuentran en el humo de tabaco, muchos de los cuales son **carcinógenos** establecidos. De este modo, si la actividad de CYP2E1 aumenta por inducción, esto puede incrementar el riesgo de carcinogenicidad por exposición a esos compuestos.

9. Ciertas isoformas del citocromo P450 **(p. ej., CYP1A1)** están particularmente involucradas en el metabolismo de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y moléculas relacionadas; por esta razón antes se les denominaba **hidrocarburo aromático hidroxilasas (AHH)**. Esta enzima es importante en el metabolismo de PAH y en la carcinogénesis producida por estos agentes. Por ejemplo, en los pulmones puede quedar involucrada en la conversión de PAH inactivos (procarcinógenos), inhalados al fumar, en carcinógenos activos mediante reacciones de hidroxilación. Los fumadores tienen concentraciones más altas de esta enzima en algunas de sus células y tejidos que los no fumadores. Algunos informes han indicado que la actividad de esta enzima puede estar alta (inducida) en la **placenta** de una fumadora, lo que en potencia altera las cantidades de metabolitos de PAH (algunos de los cuales podrían ser perjudiciales) a los que el feto queda expuesto.

10. Ciertos citocromos P450 existen en **formas polimórficas** (isoformas genéticas), algunas de las cuales muestran actividad catalítica baja. Estas observaciones son una explicación importante para las variaciones de las respuestas farmacológicas que se notan entre muchos pacientes. Un P450 que muestra polimorfismo es **CYP2D6**, que participa en el metabolismo de la **debrisoquina** (un antihipertensor; cuadro 53-2) y **esparteína** (un antiarrítmico y oxitócico). Ciertos polimorfismos de CYP2D6 causan metabolismo inadecuado de estos y de varios otros fármacos, de modo que pueden acumularse en el cuerpo, lo que da por resultado consecuencias adversas. Otro polimorfismo interesante es el de **CYP2A6**, que participa en el metabolismo de la **nicotina** hacia conitina. Se han identificado tres alelos de *CYP2A6:* un tipo natural y dos alelos nulos o inactivos. Se ha reportado que los individuos con los alelos nulos, quienes tienen metabolismo alterado de la nicotina, al parecer están protegidos contra hacerse fumadores dependientes del tabaco (cuadro 53-2). Estos individuos fuman menos, probablemente porque las concentraciones de nicotina en su sangre y cerebro permanecen altas durante más tiempo que en quienes tienen el alelo tipo natural. Se ha especulado que inhibir el CYP2A6 puede ser una nueva manera de ayudar a prevenir tabaquismo y tratarlo.

En el cuadro 53-1 se resumen algunas de las principales características de los citocromos P450.

REACCIONES DE CONJUGACIÓN PREPARAN A LOS XENOBIÓTICOS PARA EXCRECIÓN EN LA FASE 2 DE SU METABOLISMO

En las reacciones de fase 1, los xenobióticos por lo general se convierten en derivados hidroxilados más polares. En las reacciones de fase 2, estos derivados se conjugan con moléculas como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. Esto los hace aún más hidrosolubles, y finalmente se excretan en la orina o la bilis.

Aquí se describen cinco tipos de reacciones de fase 2

Glucuronidación

La glucuronidación de la bilirrubina se comenta en el capítulo 31; las reacciones mediante las cuales los xenobióticos se glucuronidan son en esencia similares. El ácido UDP glucurónico es el donador de glucuronil, y diversas glucuronosiltransferasas, presentes tanto en el retículo endoplásmico como en el citosol, son los catalíticos. Las moléculas como el 2-acetilaminofluoreno (un carcinógeno), anilina, ácido benzoico, meprobamato (un tranquilizante), fenol y muchos esteroides, se excretan como glucurónidos. El glucurónido puede estar fijo a oxígeno, nitrógeno o grupos azufre de los sustratos. La glucuronidación probablemente es la reacción de conjugación más frecuente.

Sulfación

Algunos alcoholes, arilaminas y fenoles son sulfatados. El **donador de sulfato** en estas reacciones de sulfación biológicas y otras (p. ej., sulfación de esteroides, glucosaminoglucanos, glucolípidos y gluco-

CUADRO 53-1 Algunas propiedades de los citocromos P450

• Participan en la fase 1 del metabolismo de innumerables xenobióticos, entre ellos quizá 50% de los fármacos administrados a seres humanos; pueden aumentar, disminuir o no afectar las actividades de diversos fármacos
• Participan en el metabolismo de muchos compuestos endógenos (p. ej., esteroides)
• Todos son hemoproteínas
• A menudo muestran amplia especificidad de sustrato; de este modo, actúan sobre muchos compuestos; en consecuencia, diferentes P450 pueden catalizar la formación del mismo producto
• Catalíticos en extremo versátiles, quizá catalizan alrededor de 60 tipos de reacciones
• Sin embargo, básicamente catalizan reacciones que comprenden la introducción de un átomo de oxígeno hacia el sustrato, y uno hacia agua
• Sus productos hidroxilados son más hidrosolubles que sus sustratos por lo general lipofílicos, lo que facilita la excreción
• El hígado contiene cantidades más altas, pero se encuentran en casi todos los tejidos, si no es que en todos, incluso el intestino delgado, el cerebro y los pulmones
• Están localizados en el retículo endoplásmico liso o en mitocondrias (hormonas esteroidogénicas)
• En algunos casos, sus productos son mutagénicos o carcinogénicos
• Muchos tienen una masa molecular de alrededor de 55 kDa
• Muchos son inducibles, lo que origina una causa de interacciones farmacológicas
• Muchos quedan inhibidos por diversos fármacos u otros productos metabólicos, lo que proporciona otra causa de interacciones farmacológicas
• Algunos muestran polimorfismos genéticos, que pueden dar por resultado metabolismo atípico de fármacos
• Sus actividades pueden estar alteradas en tejidos enfermos (p. ej., cirrosis), lo que afecta el metabolismo de fármacos
• En el futuro, la genotipificación del perfil de P450 de pacientes (p. ej., para detectar polimorfismos) quizá permita la individualización de la farmacoterapia

proteínas) es el **adenosina 3′-fosfato-5′-fosfosulfato (PAPS)** (cap. 24); este compuesto se llama “sulfato activo”.

Conjugación con glutatión

El glutatión (γ-glutamil-cisteinilglicina) es un **tripéptido** que consta de ácido glutámico, cisteína y glicina (fig. 3-3). El glutatión suele abreviarse GSH (debido al grupo sulfhidrilo de su cisteína, que es la parte importante de la molécula). Varios xenobióticos electrofílicos en potencia tóxicos (como ciertos carcinógenos) se conjugan hacia el GSH nucleofílico en reacciones que pueden representarse como sigue:

$$R + GSH \rightarrow R—S—G$$

Donde R = un xenobiótico electrofílico. Las enzimas que catalizan estas reacciones se llaman **glutatión S-transferasas** y están presentes en cantidades altas en el citosol hepático, y en cantidades más bajas en otros tejidos. Varias glutatión S-transferasas están presentes en el tejido humano. Muestran diferentes especificidades de sustrato, y pueden separarse mediante técnicas electroforéticas y de otros tipos. Si los xenobióticos en potencia tóxicos no se conjugaran hacia GSH, estarían libres para combinarse de manera covalente con DNA, RNA, o proteína celular y, así, podrían llevar a serio daño celular. Por ende, el GSH es un importante **mecanismo de defensa** contra ciertos compuestos tóxicos, como algunos fármacos y carcinógenos. Si se **disminuyen** las concentraciones de GSH en un tejido como el hígado (como puede lograrse mediante la administración a ratas de ciertos compuestos que reaccionan con el GSH), puede mostrarse que ese tejido es más susceptible a lesión por diversas sustancias químicas que en circunstancias normales se conjugarían con GSH. Los conjugados de glutatión quedan sujetos a **metabolismo adicional** antes de excreción. Los grupos glutamil y glicinil que pertenecen al glutatión se eliminan mediante enzimas específicas, y un grupo acetilo (donado por la acetil-CoA) se añade al grupo amino de la porción cisteinil restante. El compuesto resultante es un **ácido mercaptúrico**, un conjugado de l-acetilcisteína, que después se excreta en la orina.

El glutatión tiene otras funciones importantes en células de ser humano, además de su función en el metabolismo de xenobióticos.

1. Participa en la descomposición de **peróxido de hidrógeno** en potencia tóxico en la reacción catalizada por glutatión peroxidasa (cap. 21).
2. Es un importante **reductor intracelular**, que ayuda a mantener grupos SH esenciales de enzimas en su estado reducido. Esta función se comenta en el capítulo 21, y su participación en la anemia hemolítica causada por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa se comenta en los capítulos 21 y 52.
3. Un ciclo metabólico que comprende GSH como un acarreador ha quedado implicado en el **transporte de ciertos aminoácidos** a través de membranas en los riñones. A continuación se muestra la primera reacción del ciclo.

$$\text{Aminoácido} + \text{GSH} \rightarrow \gamma\text{-glutamil aminoácido} + \text{Cisteinilglicina}$$

Esta reacción ayuda a transferir ciertos aminoácidos a través de la membrana plasmática; el aminoácido después se hidroliza desde su complejo con GSH, y el GSH se vuelve a sintetizar a partir de cisteinilglicina. La enzima que cataliza la reacción anterior es la **γ-glutamiltransferasa (GGT)**. Está presente en la membrana plasmática de células de los túbulos renales y células de conductillos biliares, y en el retículo endoplásmico de hepatocitos. La enzima tiene valor diagnóstico porque se libera hacia la sangre desde células hepáticas en **diversas enfermedades hepatobiliares**.

Otras reacciones

Las otras dos reacciones más importantes son acetilación y metilación.

1. **Acetilación** — está representada por:

$$X + \text{Acetil-CoA} \rightarrow \text{Acetil-X} + \text{CoA}$$

Donde X representa un xenobiótico. Al igual que para otras reacciones de acetilación, la **acetil-CoA** (acetato activo) es el donador de acetilo. Estas reacciones son catalizadas por **acetiltransferasas** presentes en el citosol de varios tejidos, en particular el hígado. El fármaco **isoniazida**, que se usa en el tratamiento de tuberculosis, queda sujeto a acetilación. Hay **tipos polimórficos** de acetiltransferasas, lo que da por resultado individuos que se clasifican como **acetiladores lentos o rápidos**, e influyen sobre el índice de depuración de fármacos como isoniazida desde la sangre. Los acetiladores lentos están más sujetos a ciertos efectos tóxicos de la isoniazida porque el fármaco persiste durante más tiempo en estos individuos.

2. **Metilación** — algunos xenobióticos quedan sujetos a metilación por metiltransferasas, empleando *S*-adenosilmetionina (fig. 29-18) como el donador de metilo.

LA EDAD, EL SEXO Y OTROS FACTORES AFECTAN LAS ACTIVIDADES DE ENZIMAS QUE METABOLIZAN XENOBIÓTICOS

Diversos factores influyen sobre las actividades de las enzimas que metabolizan xenobióticos. Las actividades de estas enzimas pueden diferir considerablemente entre **especies**. De este modo, por ejemplo, la posible **toxicidad** o **carcinogenicidad** de xenobióticos no se puede extrapolar libremente desde una especie hacia otra. Hay diferencias importantes de las actividades de enzimas entre los individuos, muchas de las cuales parecen deberse a **factores genéticos**. Las actividades de estas enzimas varían de acuerdo con la **edad** y el **sexo**.

La ingestión de diversos xenobióticos, como el fenobarbital, PCB, o ciertos hidrocarburos, puede causar **inducción de enzima**. De este modo, al evaluar respuestas bioquímicas a xenobióticos es importante saber si un individuo ha quedado expuesto o no a estos agentes inductores. (Cuando se obtiene una historia clínica siempre tiene importancia que el interrogatorio incluya preguntas respecto a si el paciente ha estado tomando algún fármaco u otras preparaciones terapéuticas.) Los metabolitos de ciertos xenobióticos pueden **inhibir** o **estimular** las actividades de enzimas que metabolizan xenobióticos. De nuevo, esto puede influir sobre las dosis de ciertos fármacos que se administran a pacientes. Diversas **enfermedades** (p. ej., cirrosis del hígado) pueden afectar las actividades de enzimas que metabolizan fármacos, lo que a veces exige ajuste de las dosificaciones de diversos fármacos para pacientes que tienen estos trastornos.

LAS RESPUESTAS A XENOBIÓTICOS INCLUYEN EFECTOS FARMACOLÓGICOS, TÓXICOS, INMUNITARIOS Y CARCINOGÉNICOS

Los xenobióticos se metabolizan en el cuerpo mediante las reacciones descritas. Cuando el xenobiótico es un fármaco, las reacciones de fase 1 pueden producir su forma activa o disminuir o terminar su acción si es activo desde el punto de vista farmacológico en el cuerpo sin metabolismo previo. Los diversos efectos producidos por fármacos comprenden el área de estudio de la farmacología; aquí es importante apreciar que los fármacos actúan principalmente por medio de mecanismos bioquímicos. En el cuadro 53-2 se resumen cuatro reacciones importantes a fármacos, que reflejan **diferencias determinadas por mecanismos genéticos** de la estructura de enzima y proteína entre individuos —parte del campo de estudio conocido como **farmacogenética**—. Esta área de la ciencia se ha definido como **el estudio de la contribución de factores genéticos a la variación en la respuesta a fármacos y la toxicidad**.

CUADRO 53-2 Algunas reacciones farmacológicas importantes debidas a formas mutantes o polimórficas de enzimas o proteínas[1]

Enzima o proteína afectada	Reacción o consecuencia
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (mutaciones) (OMIM 305900)	Anemia hemolítica después de la ingestión de fármacos como primaquina
Canal de liberación de Ca^{2+} (receptor de rianodina) en el retículo sarcoplásmico (mutaciones) (OMIM 180901)	Hipertermia maligna (OMIM 145600) después de la administración de ciertos anestésicos (p. ej., halotano)
CYP2D6 (polimorfismos) (OMIM 124030)	Metabolismo lento de ciertos fármacos (p. ej., debrisoquina), lo que provoca su acumulación
CYP2A6 (polimorfismos) (OMIM 122720)	Metabolismo alterado de nicotina, que da por resultado protección contra hacerse un fumador dependiente de tabaco

[1] La deficiencia de G6PD se comenta en los capítulos 21 y 52, y la hipertermia maligna, en el capítulo 49. Al menos un gen que no es el que codifica para el receptor de rianodina, participa en ciertos casos de hipertensión maligna. Se dispone de muchos otros ejemplos de reacciones farmacológicas basadas en polimorfismo o mutación.

Los **polimorfismos** que afectan el metabolismo de fármacos pueden ocurrir en cualquiera de las **enzimas** que participan en el metabolismo de fármacos (incluso citocromos P450), en **transportadores** y en **receptores**.

Ciertos xenobióticos son muy tóxicos incluso a concentraciones bajas (p. ej., cianuro). Por otro lado, algunos xenobióticos, entre ellos fármacos, no ejercen algunos efectos tóxicos si se administran en cantidades suficientes. Los **efectos tóxicos de los xenobióticos** cubren un amplio espectro, pero los principales efectos pueden considerarse en tres encabezados generales (fig. 53-1).

El primero es **lesión celular** (citotoxicidad), que puede ser suficientemente grave como para originar muerte celular. Hay muchos mecanismos mediante los cuales los xenobióticos lesionan células. El que se considera aquí es la **unión covalente a macromoléculas celulares** de especies reactivas de xenobióticos producidas por el metabolismo. Estos blancos macromoleculares comprenden **DNA**, **RNA** y **proteína**. Si la macromolécula a la cual el xenobiótico reactivo se une es esencial para la supervivencia celular a corto plazo, por ejemplo, una proteína o enzima involucrada en alguna función celular crucial, como la fosforilación oxidativa o la regulación de la permeabilidad de la membrana plasmática, efectos graves sobre la función celular podrían hacerse evidentes con bastante rapidez.

En segundo lugar, la especie reactiva de un xenobiótico puede unirse a una proteína, y alterar su **antigenicidad**. Se dice que el xenobiótico actúa como un **hapteno**, esto es, una molécula pequeña que por sí misma no estimula la síntesis de anticuerpos, pero que se

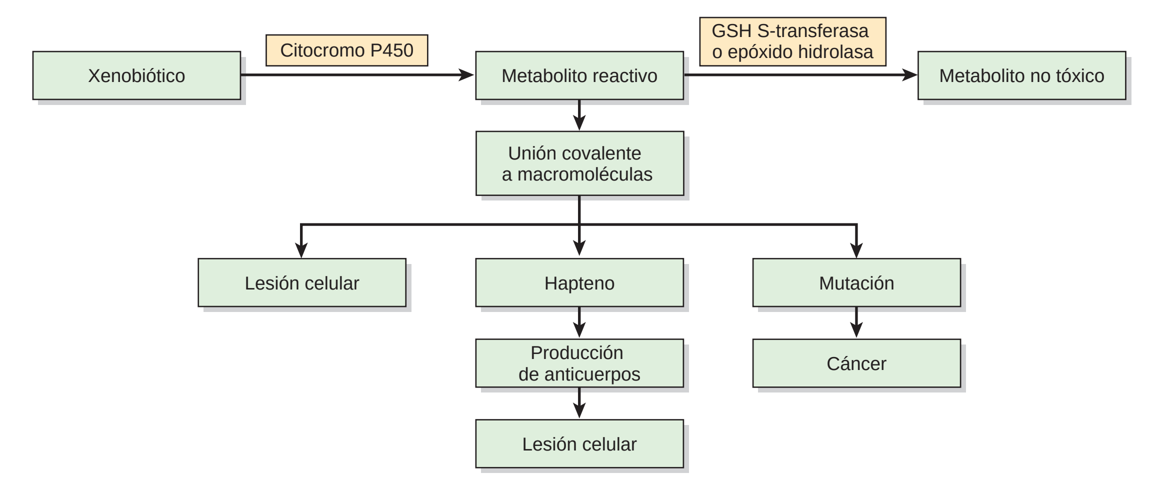


FIGURA 53-1 Esquema simplificado que muestra cómo el metabolismo de un xenobiótico puede dar por resultado lesión celular, daño inmunitario o cáncer. En este caso, la conversión del xenobiótico en un metabolito reactivo es catalizada por un citocromo P450, y la conversión del metabolito reactivo (p. ej., un epóxido) en un metabolito no tóxico es catalizada por una GSH S-transferasa o por epóxido hidrolasa.

combinará con anticuerpo una vez formados. Los **anticuerpos** resultantes entonces pueden dañar a la célula por medio de varios mecanismos inmunitarios que a grandes rasgos perturban procesos bioquímicos celulares normales.

En tercer lugar, se cree que las reacciones de especies activadas de carcinógenos químicos con **DNA** tienen gran importancia en la **carcinogénesis química**. Algunas sustancias químicas (p. ej., benzo[α]pireno) requieren activación por monooxigenasas en el retículo endoplásmico para hacerse carcinogénicas (de este modo, se llaman **carcinógenos indirectos**). Así, las actividades de las monooxigenasas y de otras enzimas que metabolizan xenobióticos presentes en el retículo endoplásmico, ayudan a determinar si esos compuestos se hacen carcinogénicos o se "destoxifican". Otras sustancias químicas (p. ej., diversos agentes alquilantes) pueden reaccionar de manera directa (carcinógenos directos) con DNA sin pasar por activación química intracelular.

La enzima **epóxido hidrolasa** despierta interés porque puede ejercer un efecto protector contra ciertos carcinógenos. Los productos de la acción de ciertas monooxigenasas sobre algunos sustratos procarcinógenos son **epóxidos**. Estos últimos son muy reactivos y mutagénicos o carcinogénicos o ambos. La epóxido hidrolasa —al igual que el citocromo P450, también presente en las membranas del retículo endoplásmico— actúa sobre estos compuestos, y los convierte en dihidrodioles mucho menos reactivos. La reacción catalizada por la epóxido hidrolasa puede representarse como sigue:

$$-\overset{|}{C}-\overset{|}{C}- \;(\text{puente }O) + H_2O \longrightarrow -\overset{|}{\underset{HO}{C}}-\overset{|}{\underset{OH}{C}}-$$

Epóxido Dihidrodiol

LA FARMACOGENÓMICA IMPULSARÁ LA CREACIÓN DE FÁRMACOS NUEVOS Y MÁS SEGUROS

Como se indicó, la **farmacogenética** es el **estudio de la contribución de los factores genéticos a la variación de la respuesta a fármacos y la toxicidad**. Como resultado del progreso hecho en la secuenciación del genoma humano, a últimas fechas se ha creado un nuevo campo de estudio: la **farmacogenómica**. Se ha definido como **el uso de información y tecnologías genómicas para optimizar el descubrimiento y el desarrollo de blancos farmacológicos y fármacos**. Se fundamenta en la farmacogenética, pero cubre una esfera de actividad más amplia. La información proveniente de la genómica, proteómica, bioinformática y otras disciplinas como la bioquímica y la toxicología se integrarán para hacer posible la síntesis de fármacos más nuevos y más seguros. A medida que se determinen las secuencias de todos los genes del ser humano y sus proteínas codificadas, esto revelará muchos nuevos **blancos para acciones**

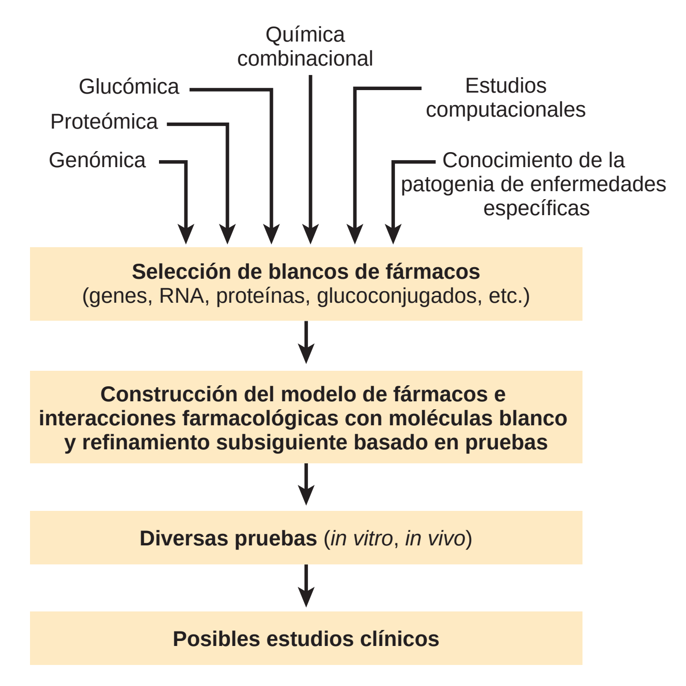


FIGURA 53-2 Esquema simplificado de algunos métodos para la creación de nuevos fármacos.

farmacológicas. También revelará **polimorfismos** (este término se comenta brevemente en el cap. 50) de enzimas y proteínas **relacionadas con el metabolismo**, **la acción y la toxicidad de fármacos**. Se construirán microarreglos capaces de detectarlos, lo que permitirá **investigar a individuos** respecto a polimorfismos en potencia perjudiciales antes del inicio de farmacoterapia. Ya se dispone de **chips de gen** para analizar ciertos genotipos de P450 (p. ej., para CYP2D6, cuyo producto de gen participa en el metabolismo de muchos antidepresivos, antipsicóticos, β-bloqueadores y algunos quimioterápicos). En la figura 53-2 se resumen algunos métodos para crear nuevos fármacos. Las ideas clave importantes del desarrollo de nuevos fármacos son **mejorar el tratamiento** y **proporcionar fármacos personalizados más seguros**, tomando en cuenta polimorfismos y otros factores **genéticos** y **ambientales**. Se ha estimado que cada año, tan sólo en Estados Unidos, ocurren alrededor de 100 000 muertes por reacciones adversas a fármacos. Se espera que la nueva información proporcionada por estudios en las diversas áreas que se indican en la figura 53-2, y en otras áreas se traduzca en terapias exitosas y **a la postre** también en una nueva era de terapéutica personalizada. Sin embargo, queda mucho trabajo por hacer antes de que esto sea alcanzable.

RESUMEN

- Los xenobióticos son compuestos químicos extraños al cuerpo, como fármacos, aditivos de alimentos, y contaminantes ambientales; se han identi cado más de 200 000.
- Los xenobióticos se metabolizan en dos fases. La principal reacción de la fase 1 es la hidroxilación catalizada por diversas monooxigenasas, también conocidas como los citocromos P450. En la fase 2, las especies hidroxiladas se conjugan con diversos compuestos hidrofílicos, como ácido glucurónico, sulfato o glutatión. La operación combinada de estas dos fases convierte los compuestos lipofílicos en compuestos hidrosolubles que se pueden eliminar del cuerpo.
- Los citocromos P450 catalizan reacciones que introducen un átomo de oxígeno derivado de oxígeno molecular hacia el sustrato, lo que da un producto hidroxilado. El NADPH y la NADPH-citocromo P450 reductasa participan en el complejo mecanismo de reacción.
- Todos los citocromos P450 son hemoproteínas y por lo general tienen una especi cidad de sustrato amplia; actúan sobre muchos sustratos exógenos y endógenos. Representan el biocatalítico más versátil conocido.
- En el tejido humano hay alrededor de 57 genes que codi can para citocromo P450.
- Los citocromos P450 por lo general están localizados en el retículo endoplásmico de las células, y están en particular enriquecidos en el hígado.
- Muchos citocromos P450 son inducibles. Esto tiene inferencias importantes en fenómenos como la interacción farmacológica.
- También hay citocromos P450 mitocondriales, y participan en la biosíntesis de colesterol y esteroides. Usan una proteína con azufre que contiene hierro no hem, adrenodoxina, no requerida por isoformas microsómicas.
- Los citocromos P450, debido a sus actividades catalíticas, desempeñan funciones importantes en las reacciones de células a compuestos químicos y en la carcinogénesis química.
- Las reacciones de fase 2 son catalizadas por enzimas como glucuronosiltransferasas, sulfotransferasas y glutatión S-transferasas, usando ácido UDP-glucurónico, PAPS (sulfato activo) y glutatión, respectivamente, como donadores.
- El glutatión no sólo desempeña una función importante en las reacciones de fase 2, sino que también es un agente reductor intracelular, y participa en el transporte de ciertos aminoácidos hacia las células.
- Los xenobióticos pueden producir diversos efectos biológicos, entre ellos respuestas farmacológicas, toxicidad, reacciones inmunitarias y cáncer.
- Catalizado por el progreso logrado en la secuenciación del genoma humano, el nuevo campo de la farmacogenómica promete poner a disposición muchísimos fármacos nuevos, diseñados de manera racional y más seguros.

REFERENCIAS

Austin CP: The impact of the completed human genome sequence on the development of novel therapeutics for human disease. Annu Rev Med 2004;55:1.

Evans WE, McLeod HL: Pharmacogenomics—drug disposition, drug targets, and side effects. N Engl J Med 2003;348:538.

Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. http://www.imm.ki.se/CYPalleles/

Ingelman-Sundberg M: Pharmacogenomic biomarkers for prediction of severe adverse drug reactions. N Engl J Med 2008;358:637.

Kalant H, Grant DM, Mitchell J (eds): *Principles of Medical Pharmacology*, 7th ed. Saunders Elsevier, 2007. (Chapters 4 [Drug Biotransformation by Riddick DS] and 10 [Pharmacogenetics and Pharmacogenomics by Grant DM and Kalow W] are particularly relevant to this Chapter.)

Katzung BG (editor): *Basic & Clinical Pharmacology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2006.

Lee C, Morton CC: Structural genomic variation and personalized medicine. N Engl J Med 2008;358:740.

Reilly J-J, Blakey JD: Why pharmacogenetics is something worth talking about. Student BMJ 2006;14:265.

Shurin SB, Nabel EG: Pharmacogenomics—ready for prime time? N Engl J Med 2008:358:1061.

Wilkinson GR: Drug metabolism and variability among patients in drug response. N Engl J Med 2005;350:2211.

CAPÍTULO

54

Historias de caso bioquímicas

Robert K. Murray, MD, PhD y Peter L. Gross, MD

INTRODUCCIÓN

En este capítulo final se presentan y comentan 16 historias de caso, las cuales ilustran la importancia del conocimiento de la bioquímica para el **entendimiento de la enfermedad**. Por supuesto, como se ha mostrado en todo el texto, la bioquímica también es crucial para la **comprensión de la salud y la enfermedad**.

Casi todas las enfermedades que se comentan aquí son **prevalecientes**, o relativamente prevalecientes, en un sentido global (la prevalencia es la proporción de personas en una población dada que tiene una enfermedad particular en un momento o un intervalo.) Sin embargo, dos (xeroderma pigmentoso, y enfermedad de inmunodeficiencia combinada grave debida a deficiencia de adenosina desaminasa [ADA]) son relativamente raras. Se incluyen porque ilustran dos hechos biológicos cruciales: la importancia de la **reparación del DNA**, y del **sistema inmunitario**, como mecanismos protectores. Además, la deficiencia de ADA es la primera enfermedad para la cual se efectuó **terapia génica** en seres humanos.

Los **valores de referencia** para los análisis de laboratorio citados en los casos que se presentan a continuación pueden diferir de los listados por laboratorios con los cuales el lector puede estar familiarizado. Esto se debe a que los valores de referencia de diferentes laboratorios varían un poco, debido en parte a metodologías diferentes. En este capítulo, los resultados de laboratorio por lo general se proporcionan como **unidades SI** (*Systeme International d'Unites*). En el **apéndice I** se listan casi todos los valores normales para los análisis de laboratorio a los que se hace referencia en este capítulo, y se proporcionan valores tanto del SI como "convencionales" (como se usan ampliamente en EUA).

Las **dosis de fármacos** administradas en el tratamiento de los casos aquí descritos por lo general no se mencionan; el lector debe verificarlas por su propia cuenta.

CASO 1: DEFICIENCIA DE ADENOSINA DESAMINASA (ADA) QUE CAUSA ENFERMEDAD DE INMUNODEFICIENCIA COMBINADA GRAVE (SCID)

Causa

Genética (debida a mutaciones del gen que codifica para ADA). La deficiencia de ADA afecta el sistema inmunitario.

Interrogatorio y examen físico

Una niña pequeña de 11 meses de edad fue llevada por sus padres a un hospital pediátrico. Había presentado varios ataques de neumonía y algodoncillo (infección bucal por lo general debida a *Candida albicans*) desde el nacimiento. Los principales datos de un estudio exhaustivo fueron cifras muy bajas de linfocitos (esto es, linfopenia grave), y bajas de inmunoglobulinas circulantes. El pediatra a cargo sospechó SCID.

Datos de laboratorio

El análisis de una muestra de eritrocitos reveló actividad muy baja de ADA y concentración muy alta (unas 50 veces lo normal) de dATP. Esto confirmó el diagnóstico de SCID debida a deficiencia de ADA; la enzima que convierte la adenosina en inosina (cap. 33):

$$\text{Adenosina} \rightarrow \text{Inosina} + NH_4^+$$

Tratamiento

Se inició **antibioticoterapia** apropiada, y se administraron inyecciones periódicas de **inmunoglobulina**. Además, se inició la administración semanal de inyecciones intramusculares de **ADA bovina conjugada con polietilén glicol**. La ADA bovina es relativamente no inmunogénica, y la conjugación con polietilenglicol prolonga su vida media. Se ha mostrado que es beneficiosa en el tratamiento de la deficiencia de ADA. Se informó a sus padres que el **trasplante de médula ósea** era la terapia más apropiada, pero declinaron el tratamiento. En vista de los reportes de éxitos con terapia génica con ADA, se ofreció este tratamiento, y los padres dieron su consentimiento. El *Ethics Committee* del hospital aprobó la terapia. Se aislaron linfocitos y células mononucleares de la sangre usando un gradiente de Ficoll (un polisacárido neutro muy ramificado). Después se cultivaron en presencia de interleucina-2 (para estimular la división celular) y se infectaron con un retrovirus modificado que contenía insertos que codificaban para ADA, y un gen (el gen NeoR) que codificaba para una enzima que rige la resistencia a neomicina, que se usó para mostrar que se había logrado la transferencia de gen. En la actualidad, una alternativa sería usar **células madre de la médula ósea** (que se ha informado que generan buenos aumentos de células tanto B como T), pero éstas no se encontraban disponibles en la época en que se dio el tratamiento. A continuación se inyectaron por vía intravenosa las células tratadas con el gen autólogo. La niña recibió inyecciones similares una vez al mes durante el año

siguiente, y siguió recibiendo además ADA conjugada con polietilén glicol. La medición de la actividad de ADA reveló un aumento sostenido (alrededor de 20% de lo normal) de la enzima en los linfocitos circulantes después de seis meses de tratamiento; análisis usando la técnica de PCR con sondas de NeoR revelaron que aproximadamente el mismo porcentaje de linfocitos contenía material genético insertado.

Discusión

La deficiencia de la actividad de ADA se hereda como una enfermedad **autosómica recesiva**. Explica alrededor de 15% de los casos de SCID; otras causas comprenden mutaciones en diversos genes que afectan la función de las células del sistema inmunitario. Casi todas las mutaciones en el gen que codifica para ADA detectadas hasta ahora han sido sustituciones de base, aunque también se han detectado deleciones. Estas mutaciones dan por resultado actividad o estabilidad disminuida de ADA. El bloqueo de la actividad de la ADA origina acumulación de adenosina, que a su vez suscita acumulación de desoxiadenosina y **dATP**. Las cifras altas de este último son **tóxicas**, en particular para **linfocitos T**, que en circunstancias normales muestran actividad alta de ADA. De este modo, los linfocitos quedan lesionados o mueren, lo que da por resultado **deterioro de la inmunidad tanto celular como humoral**, porque el deterioro de la función de las células T puede afectar de manera secundaria la función de las células B.

La deficiencia de adenosina desaminasa se ha hecho bastante notoria porque es la primera enfermedad que se trata mediante terapia génica de células somáticas. Se ha tratado a varios pacientes por medio de protocolos similares al antes descrito, que es un ejemplo de terapia génica *ex vivo* (los linfocitos y las células mononucleares se extrajeron del cuerpo antes de inserción del gen que codifica para ADA). Una razón para seleccionar a la deficiencia de ADA como una enfermedad idónea para terapia génica somática fue que las células que expresan el gen que codifica para ADA tendrían una **ventaja selectiva para crecer** sobre las células no corregidas. La terapia génica se comenta brevemente en el capítulo 39. Los aspectos importantes respecto a la terapia génica comprenden que la **magnitud de expresión** de la proteína afectada debe ser suficiente para sostener la función normal, que en circunstancias ideales el gen insertado debe mostrar **regulación normal**, y que **no deben ocurrir efectos secundarios indeseables importantes** (p. ej., cáncer debido a mutagénesis insercional). Respecto a este último punto, el gen que se está suministrando puede insertarse en un gen que es esencial para el crecimiento celular normal, y si esto ocurre puede hacer que la célula se haga cancerosa (un ejemplo de mutagénesis insercional), como se ha notado en algunos casos de terapia génica.

En la figura 54-1 se proporciona un esquema simplificado de los eventos involucrados en la causa de la deficiencia de ADA. A últimas fechas se ha informado tratamiento seguro y eficaz de deficiencia de ADA mediante terapia génica (véanse las referencias).

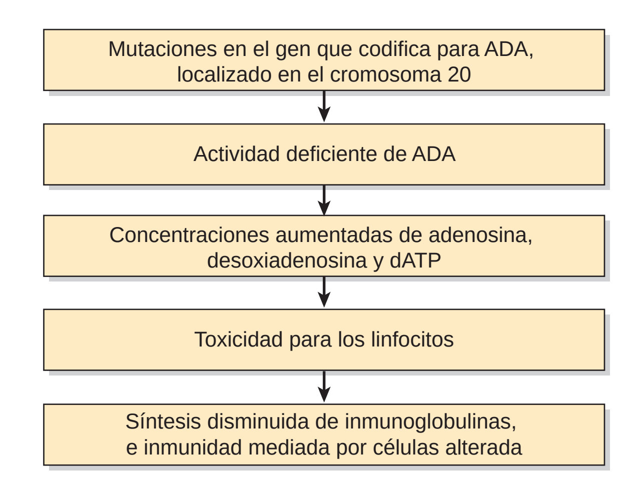


FIGURA 54-1 Resumen de los eventos probables en la causa de SCID debida a deficiencia de ADA (OMIM 102700).

CASO 2: ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Antes de estudiar este caso se recomienda al lector que consulte el material sobre la enfermedad de Alzheimer que aparece en el capítulo 5.

Causa

Muchos neurocientíficos creen que el depósito de péptido amiloide beta ($A\beta_{42}$) en ciertas partes del cerebro es una causa importante de enfermedad de Alzheimer. Se cree que este péptido de 42 aminoácidos, que existe como hojas beta, se oligomeriza y se deposita alrededor de neuronas; los oligómeros pueden ser tóxicos para estas últimas. El depósito de $A\beta_{42}$ puede deberse a formación excesiva o eliminación disminuida del péptido. En ciertos casos de enfermedad de Alzheimer familiar, se han identificado genes específicos (p. ej., éstos codifican para proteína precursora amiloide [APP], presenilinas 1 y 2, y apolipoproteína E4), que afectan la producción o la eliminación de $A\beta_{42}$.

Interrogatorio y examen físico

Una mujer de 72 años de edad que vivía sola fue encontrada vagando por su vecindario a las 2 a.m. Su esposo había muerto tres años antes, y su único hijo vivía a cierta distancia. La mujer estaba desorientada y fue llevada al hospital. Se notificó al hijo y acudió de inmediato a ver a su madre. En el momento de la admisión ella fue incapaz de dar respuestas claras al interrogatorio. El hijo manifestó que un neurólogo había diagnosticado a la mujer enfermedad de Alzheimer temprana, pero que ella se había negado a ingresar a una institución de cuidado de ancianos. Tenía ayuda en el hogar durante el día, y previamente no había vagado fuera de su hogar. A veces una amiga visitaba a la paciente y pasaba la anoche en su casa. De hecho, había parecido relativamente normal antes de la presente situación, y su hijo le hablaba por teléfono a diario. Sin embargo, su memoria a corto plazo había empeorado durante los meses recientes, y el hijo se había preocupado respecto a ella. La mujer estaba recibiendo medicamento (donezepil) para enfermedad de Alzheimer. Por lo demás, no tuvo otros antecedentes médicos importantes. Se le mantuvo en el hospital durante un par de días, tiempo durante el cual se consultó a su médico familiar y al neurólogo.

Tratamiento

En la actualidad no hay tratamiento específico para enfermedad de Alzheimer. El donezepil y varios otros fármacos que se usaron en el manejo del Alzheimer **inhiben la actividad de la colinesterasa**, una

enzima que hidroliza la acetilcolina (ACh) hacia acetato y colina. Se emplean porque algunos estudios han mostrado concentraciones más bajas que lo normal de ACh en especímenes de cerebro de sujetos que habían muerto por este mal. Parecen producir una mejoría modesta de la función del cerebro y la memoria en algunos pacientes. La memantina, un fármaco que **antagoniza los receptores de N-metil-D-aspartato**, puede causar cierta lentificación de la progresión del Alzheimer. Los síntomas como depresión, agitación, ansiedad e insomnio pueden tratarse mediante fármacos apropiados, y si sobreviene psicosis pueden requerirse antipsicóticos. Se encuentra en estudio una posible participación preventiva de los **ácidos grasos omega-3**. Sin embargo, en general, aún no hay una terapia eficaz para este padecimiento. Esta paciente se mantuvo con donezepil, y se le admitió en una institución de cuidado de ancianos con personal especializado en la atención a pacientes con Alzheimer. Además del cuidado básico de alta calidad, la institución ofrecía diversos programas, incluso de ejercicio y musicoterapia.

Discusión

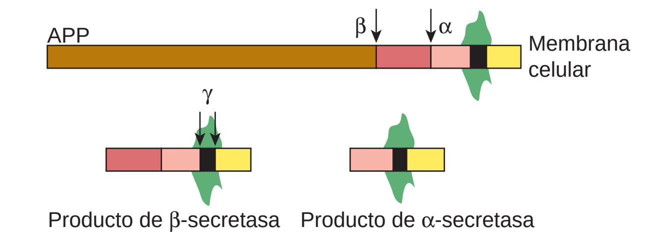
La enfermedad de Alzheimer es neurodegenerativa progresiva en la cual ocurre **declinación de la función cognitiva general**, por lo común acompañada por **alteraciones afectivas** y **conductuales**. Al menos 2 000 000 de personas en EUA la padece y es probable que su prevalencia aumente a medida que las personas vivan más tiempo. Algunos casos tienen una base **familiar (genética)**, pero la gran mayoría (~ 90%) parece ser **esporádica**. La enfermedad de Alzheimer es la causa más frecuente de **demencia**, que puede definirse como una declinación progresiva de las funciones intelectuales, debido a una causa orgánica, que interfiere considerablemente con las actividades de un individuo. La enfermedad de Alzheimer impone una tremenda carga sobre las familias y sobre el sistema de cuidado de la salud puesto que, tarde o temprano, la mayoría de los pacientes será incapaz de cuidar de sí misma. La edad de inicio habitual es después de los 65 años, pero la enfermedad puede tener un inicio temprano (p. ej., durante la quinta década de vida), en particular cuando hay una predisposición genética (véase más adelante). La supervivencia varía de dos a 20 años. Se estima que cerca de 40% de las personas de más de 85 años de edad tiene grados variables de enfermedad de Alzheimer. La **pérdida de la memoria a corto plazo** suele ser el primer signo. La enfermedad por lo general **progresa** de manera inexorable y muchos pacientes a la postre quedan por completo incapacitados.

El **diagnóstico** por lo general es de exclusión. Se necesita un examen neurológico completo, y un examen reconocido del estado mental. Es preciso excluir otras formas de demencia (cuerpos de Lewy, vascular, etc.), al igual que otros problemas orgánicos y psiquiátricos; pueden indicarse diversos análisis de laboratorio para hacer esto. En ciertos casos puede estar indicada una resonancia magnética (MRI) o tomografía computarizada (CT); éstas por lo general revelarán grados variables de atrofia cortical y agrandamiento de los ventrículos si hay enfermedad de Alzheimer. Se encuentra en proceso considerable investigación para crear análisis de laboratorio (p. ej., en sangre o líquido cefalorraquídeo) que ayuden a hacer el diagnóstico inequívoco de AD.

El **cuadro patológico** básico es el de un proceso degenerativo que se caracteriza por muerte y la pérdida consiguiente de células en ciertas áreas del cerebro (p. ej., la corteza, el hipocampo y algunos otros sitios). La **apoptosis** (un tipo programado de muerte celular en el cual se activan diversos mecanismos, en particular las actividades de enzimas proteolíticas conocidas como caspasas, dentro de una célula, lo que lleva a muerte celular rápida) tal vez esté involucrada en la muerte celular que ocurre en el Alzheimer. En el ámbito microscópico, son datos característicos las **placas neuríticas** que contienen péptido amiloide β agregado (Aβ, un péptido de 42 aminoácidos, que se encuentra en hojas beta), rodeadas por células nerviosas que contienen **marañas neurofibrilares** (filamentos helicoidales pares formados a partir de una forma hiperfosforilada de la proteína asociada con microtúbulos, **tau**). Los depósitos de $A\beta_{12}$ son frecuentes en los vasos sanguíneos de pequeño calibre.

Se encuentra en proceso investigación intensiva para determinar la causa de la enfermedad. Se ha enfocado particular interés en la presencia de **$A\beta_{42}$**, el principal constituyente de las placas que se encuentran en el Alzheimer. El término "amiloide" se refiere a un grupo de diversos depósitos de proteína extracelular que se encuentran en muchas enfermedades (cap. 50). Las proteínas amiloides por lo general se tiñen de azul con yodo, como el almidón, lo que explica el nombre (amilo denota almidón). La **hipótesis de la cascada de amiloide** propone que el depósito de $A\beta_{42}$ es la causa de los cambios patológicos que se observan en el cerebro de las víctimas de Alzheimer, y que otros cambios, como las marañas neurofibrilares y las alteraciones vasculares, son secundarios. La $A\beta_{42}$ se deriva de una proteína precursora de mayor tamaño llamada **proteína precursora amiloide (APP)**, cuyo gen está localizado en el cromosoma 21 cerca del área afectada en el síndrome de Down (trisomía 21). Los individuos con síndrome de Down que sobreviven hasta los 50 años de edad a menudo sufren Alzheimer.

Paso 1: División por α- o β-secretasa



Paso 2: División por γ-secretasa



FIGURA 54-2 Esquema simplificado de la formación de $A\beta_{42}$. La proteína precursora amiloide (APP) es digerida por β-, α-, y γ-secretasas. Un paso inicial clave (paso 1) es la digestión por β-secretasa o α-secretasa, lo que genera productos no tóxicos de menor tamaño. La división del producto de la β-secretasa por la γ-secretasa (paso 2) da por resultado el péptido $A\beta_{42}$ tóxico (que contiene 42 aminoácidos) o el $A\beta_{40}$ no tóxico. La división del producto de la α-secretasa por la γ-secretasa produce el péptido P3 no tóxico. La producción excesiva de $A\beta_{42}$ es un iniciador clave de daño celular en la enfermedad de Alzheimer. Entre los esfuerzos de investigación sobre Alzheimer han figurado intentos por crear terapias para reducir la acumulación de $A\beta_{42}$ al inhibir β- o γ-secretasas, promover la actividad de α-secretasa o eliminar $A\beta_{42}$ mediante el uso de anticuerpos específicos. (Reproducida, con autorización, de Fauci AS *et al.* [eds.], *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 17th ed, McGraw-Hill, 2008, p. 2542.)

La APP es una proteína transmembrana que puede ser dividida por proteasas conocidas como secretasas (fig. 54-2). En el paso 1, la APP se divide mediante β-secretasa o α-secretasa para producir productos no tóxicos pequeños. Después, en el paso 2, la división del producto de la β-secretasa por la γ-secretasa origina la $A\beta_{42}$ (que contiene 42 aminoácidos) tóxica, o el péptido $A\beta_{40}$ no tóxico. La división del producto de la α-secretasa por la γ-secretasa produce el péptido P3 no tóxico. Cuando se separa de su proteína original, la $A\beta_{42}$ forma un depósito extracelular insoluble. Algunos creen que la **agregación** de $A\beta_{42}$, producida por su **oligomerización** y formación de **hojas beta**, es un evento clave en la causa del Alzheimer.

En algunos pacientes con Alzheimer se han encontrado **mutaciones en ciertos genes** (Alzheimer familiar). Estas mutaciones suelen predisponer el padecimiento de inicio temprano. Uno de estos genes es el que codifica para APP. El cuadro 54-1 resume algunos aspectos de los principales genes descubiertos hasta ahora. En general, los efectos de los productos de estos genes son aumento del depósito de amiloide o decremento de su eliminación. El análisis minucioso y preciso de sus mecanismos de acción se encuentra en proceso.

Una segunda parte de la hipótesis de la cascada de amiloide es que la Aβ o los fragmentos que contienen Aβ son **neurotóxicos** de manera directa o indirecta. Hay evidencia de que la exposición de neuronas a Aβ puede aumentar su concentración intracelular de **Ca^{2+}**. Las concentraciones de Ca^{2+} regulan a algunas **proteína cinasas**, entre ellas las que participan en la fosforilación de **tau**. De este modo, el aumento del Ca^{2+} puede llevar a hiperfosforilación de tau y formación de los filamentos helicoidales pares presentes en las marañas neurofibrilares. También es probable que haya interferencia con la **función sináptica**, quizá consecutiva a daño neuronal.

Investigación adicional quizá revele desarrollos inesperados que alteren la validez de la teoría de la cascada de amiloide como se presentó en párrafos anteriores.

La investigación sobre Alzheimer ha mostrado la probable importancia de un **péptido plegado de manera anormal** en la causa de esta importante enfermedad del cerebro. Se espera que la investigación adicional dé por resultado fármacos que eviten, suspendan o incluso reviertan la enfermedad. Por ejemplo, quizá sea posible **crear moléculas pequeñas** que eviten la formación o el depósito de la $A\beta_{42}$, prevengan su agregación, o aceleren su depuración. Además, es posible que anticuerpos específicos contra $A\beta_{42}$ o tau pudieran prevenir sus acciones tóxicas putativas.

La enfermedad de Alzheimer es una de las llamadas **enfermedades conformacionales** (caps. 46 y 50), en las cuales proteínas plegadas de manera anormal desempeñan un papel fundamental en su causa. Otros ejemplos de estos padecimientos son la fibrosis quística (véase este capítulo), la enfermedad por α_1-antitripsina (cap. 50) y las enfermedades por prión (cap. 5).

El estudio de **diversas enfermedades neurodegenerativas** está proporcionando evidencia notoria de la **importancia de la estructura y función de las proteínas** en su causa. Por ejemplo, formas anormales de la proteína huntingtina desempeñan un papel importante en la enfermedad de Huntington, las anormalidades de la α-sinucleína participan en algunos casos de enfermedad de Parkinson, y se ha encontrado que los priones son clave en la causa de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. La aplicación de técnicas genómicas y proteómicas también está empezando a aclarar la **causa de trastornos psiquiátricos importantes**, como la enfermedad bipolar y la esquizofrenia. La importancia de los métodos genético y bioquímico en el entendimiento de procesos morbosos nunca ha sido más clara. En la figura 54-3 se muestra un esquema simplificado de la causa del Alzheimer.

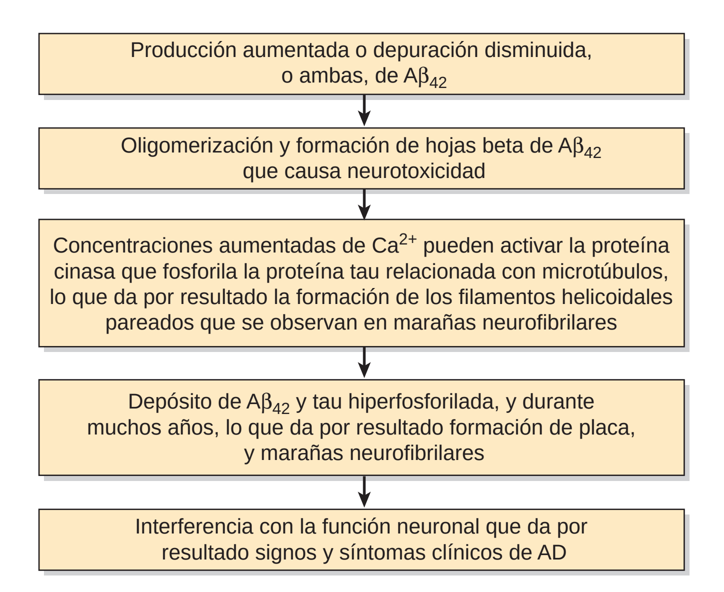


FIGURA 54-3 Un esquema tentativo de la posible secuencia de eventos en al menos ciertos casos de Alzheimer.

CUADRO 54-1 Algunos genes involucrados en tipos familiares de enfermedad de Alzheimer

Gen	Tipo de Alzheimer (AD)	Cromosoma	Producto proteínico
APP	AD1, familiar (OMIM 104300)	21	APP
APOE4	AD2, inicio tardío (OMIM 104310)	19	ApoE4
PS1	AD3, inicio temprano (OMIM 104311)	14	Presenilina 1
PS2	AD4, familiar (OMIM 606889)	1	Presenilina 2

En general, los productos de estos genes actúan al aumentar la producción de $A\beta_{42}$ (APP, PS1 y PS2) o al disminuir su depuración (APOE4). Las presenilinas 1 y 2 pueden participar en la acción de la γ-secretasa. (APP, proteína precursora amiloide; OMIM, número de catálogo de la Online Mendelian Inheritance in Man; APOE4, apolipoproteína E4; PS, presenilina.)

CASO 3: CÓLERA

Causa

Infección por *Vibrio cholerae*.

Interrogatorio y examen físico

Una estudiante de medicina de 21 años de edad que estaba trabajando en un país en desarrollo, empezó de manera súbita a expulsar heces acuosas profusas casi continuamente. Pronto empezó a vomitar, su estado general declinó de repente, y fue llevada de prisa al hospital del pueblo local. En el momento de la admisión tenía cianosis, la turgencia de la piel era inadecuada, la presión arterial era de

70/50 mm Hg (la normal es de 120/80 mm Hg), y el pulso era rápido y débil. El doctor de guardia diagnosticó cólera, tomó una muestra de heces y empezó tratamiento de inmediato.

Tratamiento

El tratamiento constó de administración por vía **intravenosa** de una solución compuesta en el hospital, que contenía 5 g de NaCl, 4 g de $NaHCO_3$ y 1 g de KCl por cada litro de agua destilada libre de pirógenos. Esta solución inicialmente se administró con rapidez (100 ml por hora) en tanto no se normalizaron la presión arterial y el pulso. También se le administró el antibiótico **doxiciclina**. Al segundo día, la mujer fue capaz de tomar la **solución de rehidratación oral** recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el tratamiento del cólera, que contiene 20 g de glucosa, 3.5 g de NaCl, 2.9 g de citrato de trisodio dihidratado (o 2.5 g de $NaHCO_3$), y 1.5 g de KCl por cada litro de agua potable.

Tomó cantidades que excedieron moderadamente el volumen diario de heces. Al cuarto día después de la admisión se reinstituyó **alimento sólido**. Siguió recuperándose con rapidez y egresó a los siete días de la admisión.

Discusión

El cólera es una importante enfermedad infecciosa endémica en ciertos países de Asia y otras partes del mundo. El principal método de transmisión es la contaminación fecal del agua y los alimentos. Se debe a *Vibrio cholerae*, una bacteria que secreta una **enterotoxina** proteínica. La toxina en realidad está codificada por un bacteriófago (CTXϕ) residente en *V. cholerae*. La enterotoxina consta de **una subunidad A** (compuesta de un péptido A1 y un péptido A2 unidos mediante un enlace disulfuro) y **cinco subunidades B**, y tiene una masa molecular de unos 84 kDa. En el intestino delgado, la toxina **se fija** por medio de las **subunidades B** unidas al **gangliósido GM1** (fig. 15-13) presente en la membrana plasmática de células de la mucosa (fig. 54-4). A continuación la subunidad A se disocia, y el **péptido A1** cruza hacia la cara interna de la membrana plasmática. Cataliza la **ADP-ribosilación** (usando NAD^+ como donador) del componente regulador de unión a GTP (G_s) de la adenilatociclasa, lo cual regula en dirección ascendente la actividad de esta enzima. Así, la **adenilil ciclasa** queda activada de manera crónica (cap. 42). Esto da por resultado un aumento del **cAMP**, que activa a la proteína cinasa A (PKA). Esto, a su vez, por medio de la fosforilación de la

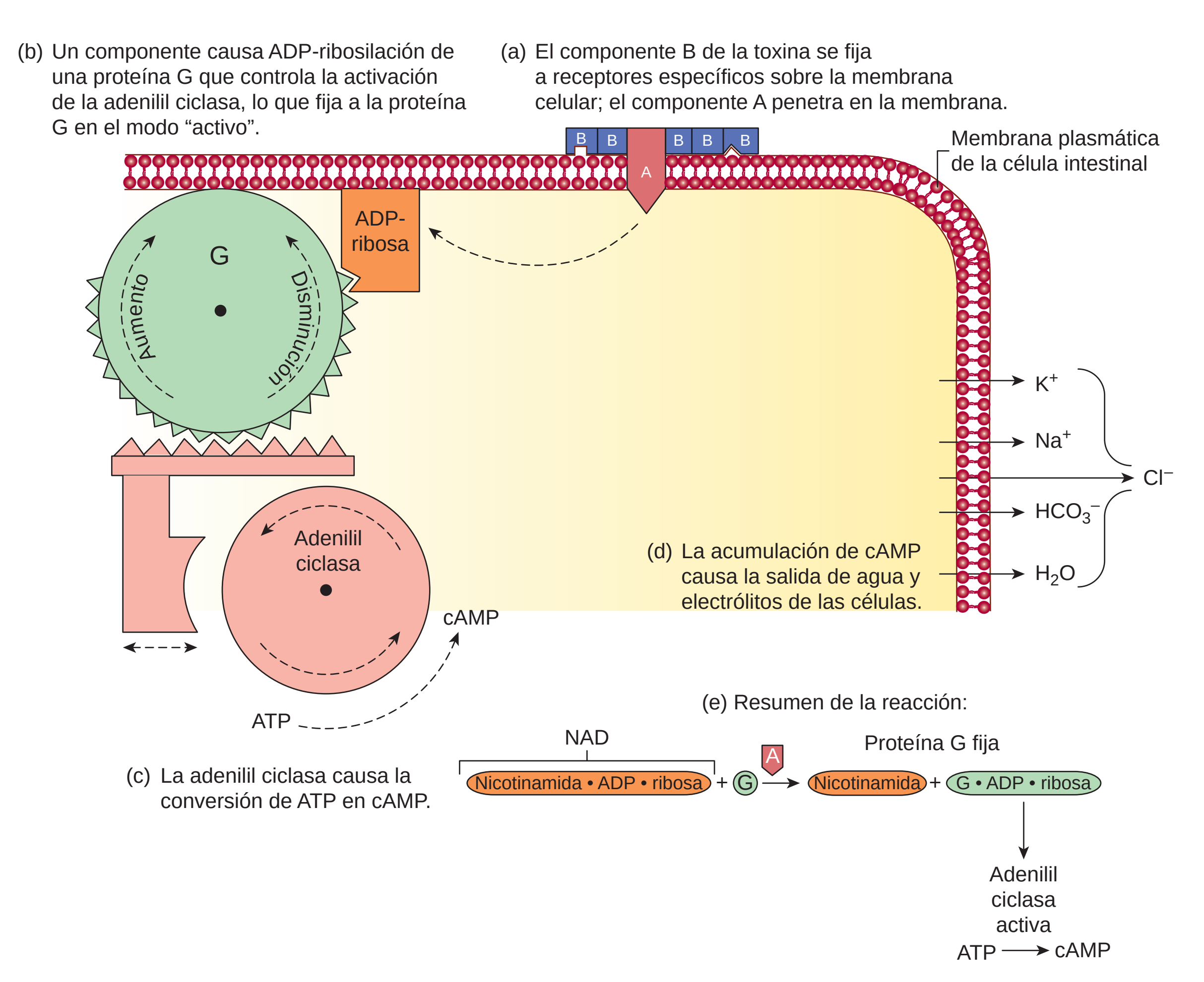


FIGURA 54-4 Representación esquemática del mecanismo de acción de la toxina del cólera (CT) unida a la membrana plasmática por medio de interacción de sus subunidades B con el gangliósido GM_1. La subunidad A cruza la membrana y cataliza la adición del componente ADP-ribosa de NAD^+ a la proteína G involucrada en la estimulación de la adenilil ciclasa ($NAD^+ \rightarrow$ ADP-ribosa + nicotinamida). La adición de ADP-ribosa a la proteína G fija a la adenilil ciclasa en su conformación activa, lo que aumenta la concentración intracelular de cAMP. Esto lleva a fosforilación de varios transportadores de membrana lo que, a su vez, da por resultado la acumulación de los iones mostrados, y de agua en la luz intestinal, lo que suele producir diarrea masiva. (Reproducida, con autorización, de Nester EW *et al*., Microbiology: A Human Perspective, 5th ed. McGraw-Hill, 2007.)

proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) y de un intercambiador de Na^+-H^+, lleva a la inhibición de la absorción de Na^+, y aumento de la secreción de Cl^-. De este modo, se acumulan cantidades masivas de NaCl dentro de la luz del intestino, lo que atrae agua mediante ósmosis y contribuye a las heces líquidas características del cólera.

La toxina del cólera también puede afectar otras moléculas involucradas en la secreción intestinal (p. ej., prostaglandinas y receptores de histamina nerviosos). La estructura histológica del intestino delgado permanece notoriamente indemne, a pesar de la pérdida de grandes cantidades de Na^+, Cl^-, agua, HCO_3 y K^+. Es la pérdida de estos constituyentes lo que da por resultado la notoria pérdida de líquido (deshidratación), el volumen sanguíneo bajo, la acidosis y el agotamiento de K^+ que se encuentran en casos graves de cólera, y que pueden resultar mortales a menos que se inicie de inmediato terapia de remplazo apropiada (como se describió). Una persona que sufre cólera puede perder hasta 1 L de líquido por hora.

El reconocimiento y la fácil disponibilidad de líquidos de remplazo apropiados, como la solución de rehidratación oral, han llevado a tremenda mejoría en el tratamiento del cólera. Es necesario recalcar que la **glucosa** es un componente esencial de la solución de rehidratación oral (cap. 40); si bien la toxina del cólera inhibe la absorción de Na^+ por las células intestinales, no inhibe el transporte de Na^+ facilitado por glucosa hacia estas células, de modo que la glucosa se absorberá y se usará para proporcionar energía.

En la figura 54-5 se resumen los mecanismos involucrados en la causa de la diarrea propia del cólera.

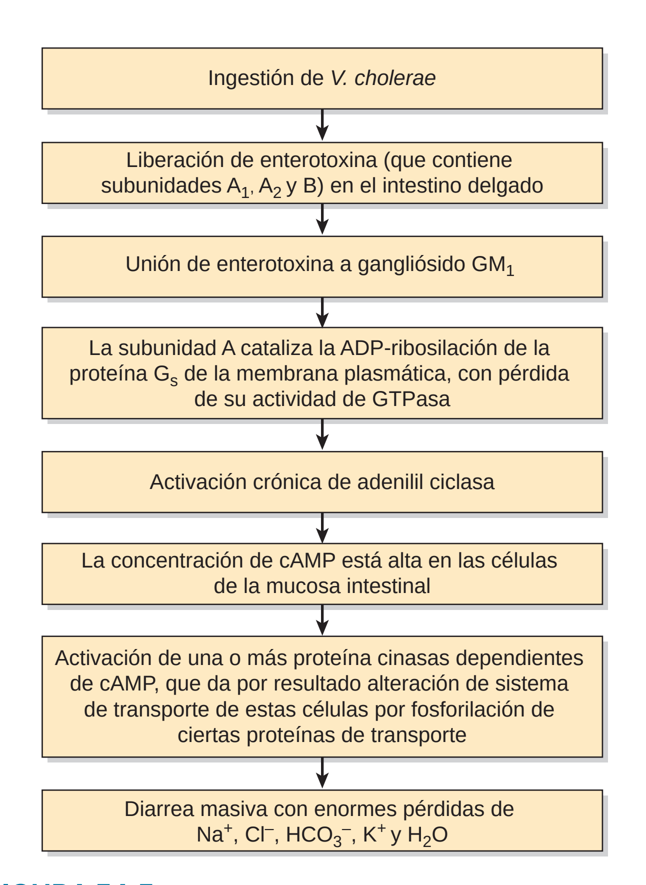


FIGURA 54-5 Resumen de los mecanismos comprendidos en la causa de la diarrea propia del cólera.

CASO 4: CÁNCER COLORRECTAL

Causa

Ambiental y genética (se cree que casi todos los cánceres, si no es que todos, se originan por mutaciones en genes clave que regulan el crecimiento celular [oncogenes y genes supresores tumorales]). Las mutaciones pueden ser hereditarias, pero mucho más a menudo participan diversas influencias ambientales (sustancias químicas, radiación y algunos virus).

Interrogatorio, examen físico y resultados de análisis

Un varón de 62 años de edad consultó a su médico familiar. Notó que había expulsado algo de sangre de color rojo brillante, fresca, en las heces, varias veces durante los tres meses previos, que atribuyó a hemorroides. En el transcurso de los 12 meses anteriores su apetito había disminuido, y había perdido más de 6 kg (10 libras). Siempre había gozado de buena salud hasta el año pasado, y no tomaba medicamentos. No sufrió otras molestias.

En vista del antecedente de sangrado rectal, la pérdida de peso y la edad del paciente, el médico sospechó que podría tener cáncer colorrectal, y solicitó al paciente que enviara muestras de heces durante tres días consecutivos para el análisis de sangre oculta en heces. Poco después el médico recibió un informe que indicaba resultados positivos. También solicitó una biometría hemática completa y estimaciones de las cifras de hierro sérico, capacidad de unión a hierro, y ferritina. Los resultados mostraron anemia microcítica (cap. 52), que a menudo se encuentra en pacientes con cáncer colorrectal debido al sangrado desde el tumor. Un examen rectal resultó negativo. No se notaron anormalidades en las radiografías del tórax.

El médico hizo arreglos para una consulta con un gastroenterólogo cuatro días más tarde. Se efectuó colonoscopia una semana después, y reveló un tumor moderadamente grande (de alrededor de 5 × 6 cm) a la mitad del colon transverso. Se solicitó medición del antígeno carcinoembrionario (CEA), un biomarcador para cáncer colorrectal (véanse más adelante comentarios adicionales, y el cap. 7). Estuvo alto (20 μg/L; normal: 0 a 3 μg/L). Se programó intervención quirúrgica dos semanas más tarde, en la cual se resecó el tumor y se efectuó una anastomosis terminoterminal. Los ganglios linfáticos regionales también se extirparon y se enviaron al laboratorio de patología junto con el espécimen tumoral. No se notó invasión local por el tumor, y no hubo tumor visible en otros sitios del abdomen, incluso el hígado. El reporte anatomopatológico subsiguiente describió el tumor como un adenocarcinoma relativamente bien diferenciado, que invadía la mucosa muscular. No se notaron células tumorales en los ganglios linfáticos; no se notaron metástasis a distancia en el momento de la operación. La etapa TNM fue T1N0M0 (cáncer limitado a la mucosa y submucosa, con supervivencia a cinco años aproximada de > 90% [T = tumor, N = ganglios linfáticos, M = metástasis]). (El lector interesado debe revisar la estadificación de tumores del intestino grueso en un libro de patología.) En vista de estos datos, no se consideró necesaria quimioterapia o radioterapia. La cuantificación del CEA varias semanas después de la intervención quirúrgica mostró que había declinado a cifras normales. Se recomendó al paciente que regresara para vigilancia a intervalos regulares; durante esas visitas, entre otros

análisis, se tomaron muestras de sangre para mediciones de CEA; permanecieron en concentraciones normales. Tres años después de la operación se efectuó una colonoscopia de seguimiento; no se observó tumor en el colon. El paciente estuvo vivo y en buen estado a los cinco años de la operación.

Discusión

Las características bioquímicas del cáncer constituyen un enorme tema; aquí sólo se cubrirán algunos tópicos, en particular: 1) oncogenes y genes supresores tumorales, y 2) el uso de CEA como un marcador tumoral.

El cáncer colorrectal es el segundo cáncer más frecuente en Estados Unidos; el cáncer pulmonar ocupa el primer lugar. Puede ocurrir en cualquier sitio del intestino grueso, aunque el recto es el lugar más frecuente. Alrededor de 95% de los tumores malignos en el intestino grueso es adenocarcinoma (cáncer de origen epitelial que surge a partir de estructuras glandulares). Alrededor de 10% de los cánceres colorrectales ocurre en el colon transverso. En este caso, aunque el tumor fue moderadamente grande, no hubo extensión desde el sitio primario del mismo, no hubo afección de ganglios linfáticos, y no habían ocurrido metástasis a distancia. Esto fue afortunado para el paciente, porque significó un excelente pronóstico, y no tuvo que recibir quimioterapia o radioterapia.

Casi todos los adenocarcinomas colorrectales se originan a partir de **pólipos adenomatosos**. Un pólipo es un crecimiento, por lo general benigno, que sobresale desde una mucosa. Hay diversos tipos. El que es de interés aquí es el pólipo adenomatoso. Casi todos los tumores del colon surgen a partir de ese tipo de pólipos, aunque casi ninguno de esos pólipos progresa hacia cáncer.

Hay varios **síndromes genéticos** bien definidos que predisponen a cáncer colorrectal. El más frecuente es el **cáncer colorrectal hereditario sin poliposis** (HNPCC), en el cual participan mutaciones en diversos genes involucrados en la reparación de errores de emparejamiento de DNA (cap. 35). Otra enfermedad relativamente rara es la **poliposis adenomatosa familiar** (poliposis adenomatosa del colon) en la cual aparecen cientos o miles de pólipos en el colon y el recto.

El gen *APC* se encuentra en el cromosoma 5q21, y se han descrito muchas mutaciones. En general, se ha estimado que alrededor de 20% de los cánceres colorrectales tiene una base genética.

Se ha propuesto que diversos **factores ambientales** están involucrados en la causa del cáncer colorrectal. Éstos comprenden dieta con alto contenido de **grasa saturada** y de **calorías**, y bajo contenido de **calcio** y de **fibra**. El modo exacto en que opera cada uno de estos factores propuestos es el tema de investigación activa. Por ejemplo, la grasa de la dieta parece aumentar la producción de colesterol y ácidos biliares por el hígado. Cuando se excretan ácidos bilia-

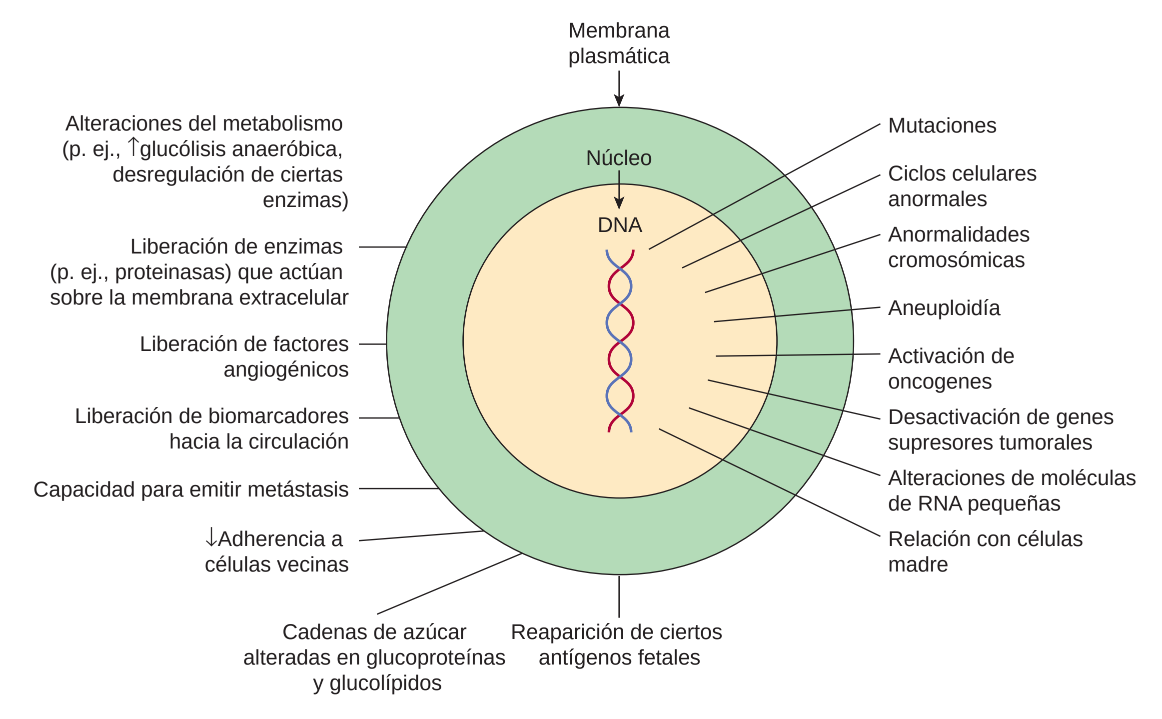


FIGURA 54-6 Algunos cambios bioquímicos y genéticos que ocurren en células cancerosas de ser humano. Se observan muchos cambios bioquímicos en células cancerosas; aquí sólo se muestran algunos de ellos. Las funciones de las mutaciones en la activación de oncogenes y la desactivación de genes supresores tumorales se comentan en el texto. A últimas fechas se han informado alteraciones de moléculas de RNA pequeñas, y se encuentra en estudio la relación entre células madre y cáncer. A menudo hay anormalidades cromosómicas (p. ej., aneuploidía, una totalidad de cromosomas que no es un múltiplo exacto de 23) evidentes en células cancerosas. Se han observado muchos cambios en el metabolismo; por ejemplo, las células cancerosas suelen mostrar un índice alto de glucólisis anaeróbica. Se han detectado cambios de los constituyentes de la membrana plasmática (p. ej., alteración de las cadenas de azúcar de diversas glucoproteínas y glucolípidos), y quizá tengan importancia en relación con las metástasis. Las alteraciones de las interacciones entre las células cancerosas y los constituyentes de la membrana extracelular también pueden tener importancia respecto a la capacidad de las células cancerosas para diseminarse hacia otros sitios. Diversas moléculas pueden salir de las células cancerosas, y detectarse en la sangre como marcadores tumorales.

res hacia el intestino, las enzimas bacterianas pueden actuar sobre ellos para convertirlos en ácidos biliares secundarios, que se cree que son promotores de tumor. Un **promotor de tumor** es una molécula que junto con un **iniciador** (esto es, una molécula que causa una mutación en el DNA) lleva a la célula a tornarse cancerosa. La **enfermedad inflamatoria intestinal** (p. ej., colitis ulcerosa) es otro factor que predispone a cáncer colorrectal.

La **esencia de las células cancerosas** (esto es, células tumorales malignas) es que muestran desregulación de muchos mecanismos de control involucrados en el crecimiento y la división celulares, de modo que crecen con mayor rapidez que sus homólogas normales. Otra característica crucial de las células cancerosas es que se **diseminan** hacia otros sitios del cuerpo (esto es, emiten metástasis). Las células tumorales **benignas** muestran crecimiento anormal, pero no emiten metástasis. Los tumores malignos de tejido epitelial se llaman carcinomas, y los de tejidos blandos, sarcomas. En la figura 54-6 se resumen algunas características importantes de las células cancerosas.

En el transcurso de los 30 años pasados, se han logrado avances en el entendimiento de cómo las células cancerosas se desarrollan y crecen. Dos datos clave fueron el descubrimiento de oncogenes y de genes supresores tumorales. Un **oncogén** puede definirse como un gen alterado (por mutación) cuyo producto actúa de una manera dominante para acelerar el crecimiento o la división celulares, lo que contribuye a la aparición de cáncer. Los oncogenes por lo general se derivan de mutación desde protooncogenes celulares normales. Los factores que causan mutación comprenden sustancias químicas y radiación. Un **gen supresor tumoral** produce un producto proteínico que en circunstancias normales suprime el crecimiento o la división celular. Cuando un gen de ese tipo se altera (p. ej., por mutación), el efecto inhibidor de su producto se pierde o disminuye, lo que lleva también a crecimiento, o división, o ambos, celulares aumentados. El estudio de los genes de ciertos virus que causan cáncer (p. ej., virus del sarcoma de Rous) tuvo gran importancia en la apertura del conocimiento en esta área. En la actualidad se han identificado muchos oncogenes y genes supresores tumorales en seres humanos y otros animales.

Estudios de la **aparición de cánceres de colon** efectuados por Vogelstein y otros han llevado a información importante acerca de los papeles de esos genes en cánceres de ser humano. Estos investigadores analizaron varios oncogenes, genes supresores tumorales y genes estrechamente relacionados con las acciones de los productos de los dos tipos de genes anteriores en muestras de epitelio normal del colon, en epitelio displásico, en diversos estadios de pólipos adenomatosos, y en adenocarcinomas. La displasia es un estado preneoplásico, que se caracteriza por desarrollo anormal del epitelio. En la figura 54-7 se resumen algunos de sus principales resultados. Puede observarse que se encontró que ciertos genes están mutados a estadios relativamente específicos de la secuencia total mostrada. En el cuadro 54-2 se listan las funciones de diversos genes identificados. La secuencia general de cambios puede variar un poco de la que se muestra, y otros genes también pueden estar involucrados. Se han efectuado estudios similares sobre varios otros tumores de ser humano, que revelan modelos de activación de oncogenes y mutaciones de genes supresores tumorales un poco diferentes. Mutaciones adicionales en estos genes y en otros están involucradas en el fenómeno de **progresión tumoral**, por el cual las células cancerosas se seleccionan según índices de crecimiento rápido y capacidad para diseminarse. Estudios como los que acaban de describirse muestran que **el cáncer en realidad es una enfermedad genética**, pero en un sentido un poco diferente del significado general de la frase, por cuanto muchas de las alteraciones de gen se deben a mutaciones somáticas.

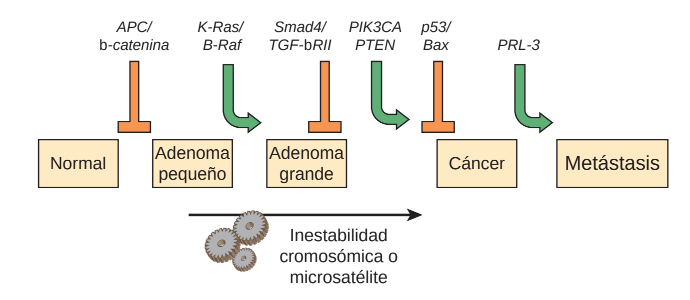


FIGURA 54-7 Cambios genéticos de múltiples pasos relacionados con la aparición de cánceres colorrectales. Las mutaciones en el gen *APC* inician la formación de adenomas. Se indica una secuencia de mutaciones en un oncogén y en diversos genes supresores tumorales que puede dar por resultado progresión adicional hacia adenomas grandes y cáncer. Los pacientes con poliposis adenomatosa familiar (OMIM 175100) heredan mutaciones en el gen *APC* y presentan muchos focos de criptas aberrantes (ACF) displásicos, algunos de los cuales progresan a medida que adquieren las otras mutaciones indicadas en la figura. Los tumores de pacientes con cáncer de colon hereditario sin poliposis (OMIM 120435) pasan por una serie de mutaciones similar, aunque no idéntica; las mutaciones en el sistema de reparación de errores de emparejamiento aceleran este proceso. El *K-RAS* es un oncogén y los otros genes específicos indicados son genes supresores tumorales. Se conocen las localizaciones cromosómicas de los diversos genes indicados. La secuencia de eventos aquí mostrada no es invariable en la aparición de todos los cánceres colorrectales. Se han descrito varias otras alteraciones genéticas en una pequeña fracción de cánceres colorrectales avanzados. Éstas quizá sean la causa de la heterogeneidad de las propiedades biológicas y químicas observadas entre diferentes casos. En muchos tumores ocurre inestabilidad de cromosomas y microsatélites (cap. 35), y probablemente comprenden mutaciones en un número considerable de genes. (Reproducida, con autorización, de Bunz F, Kinzler, KW, Vogelstein B: Colorectal Tumors, Fig. 48–2, *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease,* www.ommbid.com)

También hay evidencia de que **mecanismos epigenéticos** (p. ej., metilación/desmetilación de citocina en genes específicos, y acetilación de histonas H3 y H4 que afectan la transcripción de gen) pueden participar en la carcinogénesis. Un área de interés respecto a ese tipo de cambios es que son en potencia reversibles.

Otra área de gran relevancia actual es la implicación de las **células madre** en la carcinogénesis. Este tema no se abordará aquí, pero está atrayendo mucha investigación.

El **CEA** es una glucoproteína presente en las membranas plasmáticas de muchas células. Se libera hacia el plasma en varias enfermedades, en las cuales puede medirse mediante radioinmunovaloración. Las concentraciones de CEA están aumentadas en el suero de pacientes con cáncer colorrectal, pero también en presencia de otros cánceres alimentarios y no alimentarios, y en ciertos estados no cancerosos.

Menos de 50% de los individuos con cáncer colorrectal localizado tiene concentraciones altas de CEA, de modo que no es una

CUADRO 54-2 Algunos genes relacionados con carcinogénesis colorrectal

Gen[1]	Acción de la proteína codificada
APC (OMIM 611731)	Antagoniza la emisión de señales Wn t[2]; si está mutado, la emisión de señales Wnt está aumentada, lo que estimula el crecimiento celular
β-Catenina (OMIM 116806)	Codifica para β-catenina, una proteína presente en uniones adherentes, que son importantes en la integridad de capas epiteliales
K-RAS (OMIM 601599)	Participa en la emisión de señales de tirosina cinasa
BRAF (OMIM 164757)	Una serina/treonina cinasa
Smad4 (OMIM 600993)	Afecta la emisión de señales por el factor de crecimiento transformante-beta (TGF-β)
TGF-βRII	Actúa como un receptor para TGF-β[3]
PIK3CA (OMIM 171834)	Actúa como una subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa
PTEN (OMIM 601728)	Una proteína-tirosina fosfatasa con un área de homología con la tensina, una proteína que interactúa con los filamentos de actina en adherencias focales
p53 (OMIM 191170)	El producto, p53, participa en la reacción a daño del DNA y es también un factor de transcripción para muchos genes involucrados en la división celular; p53 a veces se llama el "guardián del genoma"
Bax (OMIM 600040)	Actúa para inducir muerte celular (apoptosis)[4]
PRL-3 (OMIM 606449)	Una proteína-tirosina fosfatasa

Abreviaturas: *APC,* gen de la poliposis adenomatosa del colon; *K-RAS,* gen asociado con Kirsten-Ras; *BRAF,* el homólogo humano de un protooncogén aviario; *Smad4,* el homólogo de un gen que se encuentra en *Drosophila;* PIK3CA, la subunidad catalítica de la fosfatidilinositol 3-cinasa; *PTEN,* una proteína-tirosina fosfatasa y homólogo de la tensina; p53, un polipéptido con masa molecular de 53 000; *Bax,* proteína X asociada a BCL2 (BCL-2 es un represor de la apoptosis); *PRL3,* una proteína-tirosina fosfatasa con homología con PRL1, otra proteína-tirosina fosfatasa que se encuentra en hígado en regeneración.

Nota: Los diversos genes listados son oncogenes, genes supresores tumorales o genes cuyos productos están estrechamente relacionados con los productos de estos dos tipos de genes. Los efectos acumulativos de mutaciones en los genes listados impulsan a las células epiteliales del colon para que proliferen y finalmente se hagan cancerosas. Logran esto principalmente mediante efectos sobre diversas vías de emisión de señales que afectan la proliferación celular. También participan otros genes y proteínas no listados aquí. Este cuadro y la figura 54-7 muestran de manera vívida la importancia de un conocimiento detallado de la emisión de señales celulares para entender la génesis del cáncer.

[1] *K-RAS* y *BRAF* son oncogenes; los otros genes listados son genes supresores tumorales o genes cuyos productos se relacionan con las acciones de los productos de genes supresores tumorales.

[2] La familia Wnt de glucoproteínas secretadas participa en diversos procesos vinculados con el desarrollo. La tensina es una proteína que interactúa con filamentos de actina en adherencias focales.

[3] El TGF-β es un polipéptido que regula la proliferación y diferenciación en muchos tipos de célula.

[4] Un protooncogén es el homólogo normal de un oncogén. La apoptosis es muerte celular programada.

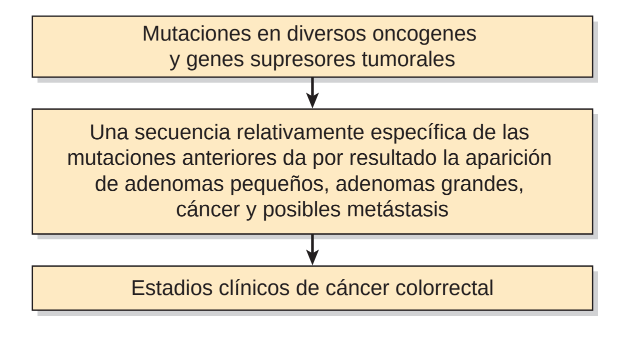


FIGURA 54-8 Esquema simplificado de la causa de cáncer colorrectal en múltiples pasos.

prueba de detección útil para esta enfermedad. Su principal uso estriba en **vigilar los efectos del tratamiento**, y detectar **recurrencia** de cánceres como el colorrectal, al dar seguimiento a cambios en su concentración. En el presente caso, la concentración de CEA permaneció baja durante cinco años después de la operación, lo que sugiere que el cáncer no había recurrido. Un objetivo (probablemente inalcanzable) de la investigación en esta área sería crear biomarcadores muy específicos para cáncer colorrectal muy incipiente, y para otros tumores muy tempranos, que resultaran positivos en 100% de los casos y negativos en 100% de los individuos normales.

En la figura 54-8 se resumen algunos factores importantes que llevan a la aparición de cáncer colorrectal.

CASO 5: FIBROSIS QUÍSTICA

Causa

Genética (mutaciones en el gen que codifica para la proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística, CFTR).

Interrogatorio y examen físico

Una niña de un año de edad, hija única, de ascendencia caucásica, fue llevada por su madre a la clínica en el *Hospital for Sick Children*. Había estado febril durante las 24 h anteriores, y estaba tosiendo con frecuencia. La madre declaró que su hija había experimentado tres ataques de "bronquitis" desde el nacimiento, cada uno de los cuales había sido tratado con antibióticos por su médico familiar. La madre también señaló que durante los meses anteriores su hija había estado expulsando heces un poco voluminosas, fétidas, y no estaba aumentando de peso como se esperaba. En vista del antecedente de problemas pulmonares y gastrointestinales, el médico a cargo sospechó que la paciente podría tener fibrosis quística, aunque no había antecedentes familiares de esta enfermedad.

Datos de laboratorio

Las radiografías de tórax mostraron signos congruentes con bronconeumonía. El cultivo de esputo reveló predominantemente *Pseu-*

domonas aeruginosa. La grasa fecal estuvo aumentada. Se efectuó una prueba de sudor cuantitativa con iontoforesis de pilocarpina, y el Cl^- en el sudor fue de 70 mmol/L (> 60 mmol/L es anormal); el análisis se repitió una semana más tarde, con resultados similares.

Tratamiento

Se dio a la niña **antibioticoterapia** apropiada, y se le remitió a la **clínica de fibrosis quística** para cuidado adicional. Se instituyó un **programa integral** para atender todos los aspectos de su salud, incluso consideraciones psicosociales. Se inició el suministro de una **preparación de enzimas pancreáticas** (con cada comida) y **dieta hipercalórica** complementada con **polivitamínicos** y **vitamina E**. Se inició **drenaje postural** para las secreciones pulmonares espesas. Las infecciones subsiguientes se trataron con prontitud con antibióticos apropiados y con una preparación recombinante en aerosol de **DNasa de ser humano**, que digiere el DNA de microorganismos presentes en las vías respiratorias. A los seis años de edad, la niña había mostrado crecimiento normal, había estado relativamente libre de infección durante un año, y estaba asistiendo a la escuela y progresando en forma satisfactoria. En casos crónicos serios de fibrosis quística en los cuales hay grave alteración de los pulmones se considera la práctica de **trasplante pulmonar**, aunque a últimas fechas se ha puesto en duda la eficacia de este tratamiento.

Se está examinando la investigación sobre **terapia génica** para fibrosis quística (p. ej., uso de virus recombinantes que codifican para la proteína CFTR). Otra línea de investigación se dirige a si pueden encontrarse **moléculas pequeñas** para uso clínico que ayuden a moléculas de CFTR plegadas de manera anormal a volver a plegarse hacia moléculas con actividad al menos parcial.

Discusión

La fibrosis quística es una enfermedad genética **prevaleciente** y por lo general seria entre sujetos de raza blanca en la parte no latina de América. Afecta a aproximadamente 1:2 500 individuos, y se hereda como una enfermedad **autosómica recesiva**; alrededor de una persona de cada 25 es un portador. Es una enfermedad de las **glándulas exocrinas**; las **vías respiratorias** y el **tubo digestivo** son los más afectados. Un dato diagnóstico característico es la presencia de **cantidades altas de NaCl en el sudor**, lo que refleja una anormalidad de la función de las glándulas exocrinas (véase más adelante). Por lo general se ha usado **iontoforesis con pilocarpina** para permitir la recolección de cantidades suficientes de sudor para análisis. La iontoforesis es un proceso mediante el cual se introducen fármacos en el cuerpo (en este caso la piel) por medio de una corriente eléctrica. Su uso está disminuyendo a medida que aumenta la disponibilidad de sondas genéticas específicas.

La **presentación clásica** de la fibrosis quística es la de un niño de corta edad con antecedente de infección pulmonar recurrente y signos de insuficiencia exocrina (p. ej., heces voluminosas y grasosas debido a la falta de lipasa pancreática), como en el presente caso. Sin embargo, la enfermedad es **heterogénea en clínica**; lo que al menos refleja en parte heterogeneidad en el ámbito molecular (véase más adelante). Alrededor de 15% de los pacientes puede tener bastante función pancreática como para que se le clasifique como "suficiente en el aspecto pancreático".

Por razones relacionadas con anormalidades del transporte de Cl^- y Na^+ (véase más adelante), los **conductos pancreáticos** y los de algunas otras glándulas exocrinas quedan llenos de **moco viscoso**, lo que lleva a su **obstrucción**. Este moco también se encuentra en los **bronquiolos**, y da pie a su obstrucción, lo cual favorece el crecimiento de ciertas bacterias (p. ej., *Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*) que causan **infecciones broncopulmonares recurrentes**, lo que a la postre altera seriamente la función pulmonar. A su vez, la enfermedad pulmonar puede llevar a hipertrofia del ventrículo derecho y posible insuficiencia cardiaca. Los pacientes por lo general mueren por **infección pulmonar** o **insuficiencia cardiaca**. Durante los últimos años, un mayor número de pacientes han estado viviendo hasta su cuarta década de vida o más, y la enfermedad ahora se diagnostica en etapas más tempranas y se inicia terapia integral apropiada. A veces, problemas debidos a falta de secreciones pancreáticas pueden estar presentes **en el momento del nacimiento**, y los lactantes pueden presentarse con obstrucción intestinal debido a meconio muy espeso **(íleo por meconio)**. Otros pacientes que tienen afección menos grave pueden no diagnosticarse sino hasta que están en el segundo decenio de la vida o más tarde. La fibrosis quística también afecta las **vías genitales**, y la mayoría de los varones y muchas mujeres son **estériles**.

En 1989, los resultados de un programa colaborativo entre científicos canadienses y estadounidenses revelaron la naturaleza de la lesión genética en la mayoría de quienes sufren fibrosis quística. El gen afectado en esta enfermedad fue el primero en clonarse únicamente con base en su posición determinada mediante **análisis de enlace (clonación posicional)**; conllevó una enorme cantidad de trabajo esmerado, y constituyó un tremendo triunfo para la **"genética inversa"**. Genética inversa significa que el gen se aisló con base en su ubicación en el mapa, y no según la disponibilidad de reordenamientos o deleciones cromosómicas (en contraste con, por ejemplo, el aislamiento del gen afectado en la distrofia muscular de Duchenne). El éxito de este esfuerzo titánico mostró que, al menos en teoría, la base molecular de cualquier enfermedad genética podría revelarse mediante métodos similares. Avances más recientes (p. ej., los resultados del *Human Genome Project*, Proyecto del Genoma Humano) han facilitado más la identificación de "genes de enfermedad".

En el cuadro 54-3 se resumen las principales estrategias usadas en la detección del gen involucrado en la causa de la fibrosis quística. El producto proteínico del gen codifica para una proteína de membrana integral de aproximadamente 170 kDa. Se nombró

CUADRO 54-3 Algunas estrategias usadas para aislar el gen involucrado en la fibrosis quística

- A partir del estudio de gran número de familias con fibrosis quística, el gen se asignó al cromosoma 7 al demostrar enlace con varios RFLP en ese cromosoma.
- El estrechamiento adicional hacia una región más pequeña del cromosoma 7 se logró mediante el uso de RFLP adicionales.
- Se usaron salto de cromosoma y caminata de cromosoma para aislar clonas.
- La región afectada se secuenció al buscar mutaciones en el DNA que no estuvieron presentes en el DNA de individuos normales, exones expresados como mRNA en tejidos afectados por fibrosis quística (p. ej., páncreas y pulmón), secuencias conservadas a través de especies, y un marco de lectura abierto (que indica una proteína expresada).

CUADRO 54-4 Algunas características del gen que codifica para la proteína CFTR y de la proteína en sí

• Gen de alrededor de 250 000 bp en el cromosoma 7.
• 25 exones.
• mRNA de 6 129 bp.
• Proteína transmembrana de 1 480 aminoácidos.
• La CFTR contiene dos NBF y un dominio regulador.
• La mutación más frecuente en la fibrosis quística es la deleción de ΔF508 presente en el primer NBF.
• La CFTR es un transportador de cloruro con capacidad de respuesta a cAMP.
• Muestra homología con las otras proteínas que usan ATP para efectuar transporte a través de membranas (p. ej., glucoproteína P).

Abreviaturas: CFTR, proteína reguladora transmembrana de la fibrosis quística; F, fenilalanina; NBF, pliegue de unión a nucleótido.

CUADRO 54-5 Algunos mecanismos mediante los cuales las mutaciones pueden afectar la proteína CFTR

I	Reducen o suprimen su síntesis
II	Bloquean su procesamiento intracelular
III	Alteran su regulación del flujo de cloruro
IV	Alteran la conductancia del canal de cloruro

CFTR y se encontró que es un **transportador de cloruro con capacidad de respuesta a cAMP**, lo que ayudó a explicar el contenido alto de cloruro en el sudor en pacientes con fibrosis quística.

En el cuadro 54-4 se listan algunas de las características del **gen** y de la proteína **CFTR**. La mutación importante localizada inicialmente en el gen fue deleción de tres bases que codifican para el residuo fenilalanina 508 (ΔF508); en Norteamérica, alrededor de 70% de los portadores de fibrosis quística tiene esta mutación. Investigación subsiguiente ha revelado **más de 1 000 mutaciones diferentes** en el gen. Se han encontrado diversos tipos de mutaciones, entre ellas deleciones pequeñas, inserciones y mutaciones de sentido erróneo y sin sentido. Debido a la importancia del diagnóstico temprano, en ciertos países ahora se efectúan pruebas de detección genéticas para fibrosis quística en **todos los recién nacidos**. En otros sitios se están usando técnicas para detectar deleción de ΔF508 y varias de las otras mutaciones más frecuentes para **confirmar el diagnóstico** de fibrosis quística, para **detectar portadores** y en el **diagnóstico prenatal**.

La **proteína CFTR** (fig. 54-9) consta de dos mitades similares, cada una de las cuales contiene seis regiones transmembrana y un pliegue de unión a nucleótido (ATP) (NBF). Las dos mitades de la molécula están unidas por un dominio regulador. El F508 está localizado en el NBF1. La proteína muestra similitudes de la estructura con ciertas otras proteínas que usan ATP para transportar moléculas a través de membranas celulares (p. ej., glucoproteína P, que participa en la resistencia a ciertos quimioterápicos de cáncer).

En circunstancias normales, la CFTR se sintetiza en polirribosomas unidos y se exporta hacia la membrana plasmática, donde funciona. Las mutaciones pueden afectar a la CFTR de diversas maneras, que se resumen de modo breve en el cuadro 54-5. Muchas mutaciones afectan el **plegado** de la proteína, lo que reduce de manera notoria su función; esto clasifica a la fibrosis quística como una **enfermedad conformacional** (véanse el cap. 46, y la exposición sobre enfermedad de Alzheimer en este capítulo). Las mutaciones afectan muchas otras proteínas de una manera similar a las que se resumen en el cuadro 54-5; afectan su síntesis, procesamiento o función.

En la figura 54-10 se resumen algunos de los mecanismos involucrados en la causa de la fibrosis quística.

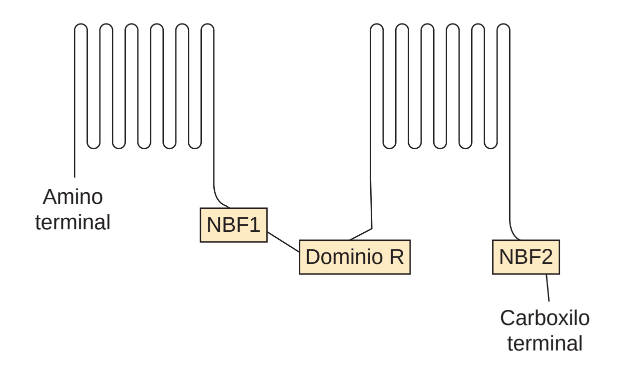


FIGURA 54-9 Diagrama de la estructura de la proteína CFTR (no a escala). La proteína contiene 12 segmentos transmembrana, dos pliegues o dominios de unión a nucleótido (NBF1 y NBF2) y un dominio regulador (R). NBF1 y NBF2 se unen a ATP y acoplan su hidrólisis al transporte de Cl^-; se llaman casetes de unión a ATP (ABC), una característica que se encuentra en muchos transportadores de membrana. Phe 508, el principal *locus* de mutaciones en la CF, está localizado en NBF1.

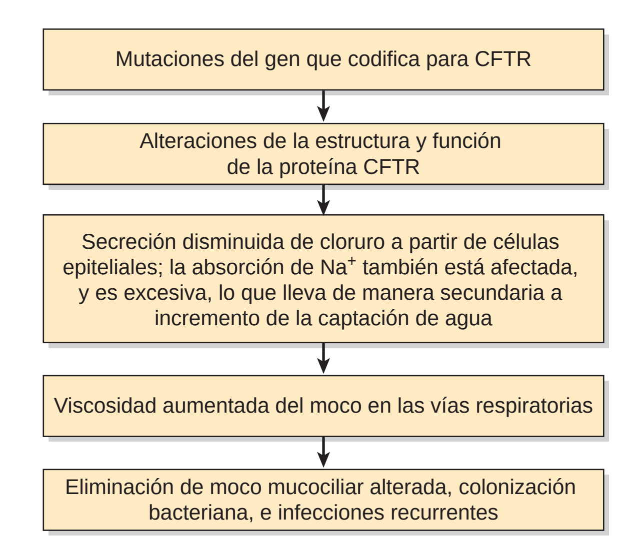


FIGURA 54-10 Resumen de los posibles mecanismos involucrados en células en las vías respiratorias de individuos con fibrosis quística (OMIM 219700) que tienen enfermedad pulmonar. En sujetos de origen caucásico, 70% de las mutaciones ocurre en un *locus*, lo que da por resultado deleción de ΔF508 desde la proteína CFTR. Sin embargo, se han identificado más de 1 000 mutaciones en el gen *CFTR*. Básicamente, la proteína CFTR actúa de manera normal como un transportador regulado por cAMP involucrado en la secreción de Cl^-, pero además por lo normal inhibe la absorción de Na^+ por un canal de Na^+. La viscosidad del moco en los conductillos pancreáticos también está aumentada, lo que lleva a su obstrucción. Los detalles de cómo las anormalidades de la CFTR afectan el transporte de ion en el páncreas son un poco diferentes de los que se aplican en los pulmones.

CASO 6: CETOACIDOSIS DIABÉTICA

Causa

Endocrina (debido a deficiencia de insulina).

Interrogatorio y examen físico

Una niña de 14 años de edad fue admitida en coma a un hospital pediátrico. Su madre declaró que la niña había tenido buena salud hasta unas dos semanas antes, cuando presentó faringoamigdalitis y fiebre moderada. Después perdió el apetito y en general no se sintió bien. Varios días antes de la admisión empezó a quejarse de sed excesiva, y a levantarse varias veces por la noche a orinar. Su médico familiar estaba fuera de la ciudad, y su madre prefirió no ponerse en contacto con otro médico. Sin embargo, en el día de la admisión la niña había empezado a vomitar, se había tornado somnolienta y difícil de despertar, y en consecuencia se le había llevado a la sala de urgencias. En el momento del examen estaba deshidratada, su piel estaba fría, estaba respirando de manera profunda y con suspiros (respiración de Kussmaul), y su aliento tenía un olor a frutas. La presión arterial fue de 90/60, y el pulso de 115/min. Era imposible despertarla. El interno de guardia diagnosticó diabetes mellitus tipo 1 (antes denominada insulinodependiente) con cetoacidosis y coma (DKA) resultantes.

Datos de laboratorio

Los datos de laboratorio, amablemente proporcionados por el Dr. ML Halperin, confirmaron el diagnóstico de admisión:

Resultados en el plasma o suero (las cifras normales en unidades SI están entre paréntesis):

- Glucosa, 50 mmol/L (4.2 a 6.1 mmol/L)
- Cetoácidos ++++ (traza)
- Bicarbonato, 6 mmol/L (22 a 30 mmol/L)
- Nitrógeno ureico, 15 mM (2.5 a 7.1 mmol/L)
- pH en sangre arterial, 7.07 (7.35 a 7.45)
- Na^+, 136 (136 a 146 mmol/L)
- Cl^-, 100 (102 a 109 mmol/L)
- PCO_2 2.7 (4.3 a 6.0 kPa [o 32 a 45 mm Hg])
- Hiato aniónico, 31 (7 a 16 mmol/L)
  (El hiato aniónico se calcula a partir del $Na^+ - [Cl^- + HCO_3^-]$ plasmático)
- Potasio, 5.5 mmol/L (3.5 a 5.0 mmol/L)
- Creatinina, 200 μmol/L (44 a 80 μmol/L)
- Albúmina 50 g/L (41 a 53 g/L)
- Osmolalidad, 325 (275 a 295 mosm/kg de agua de suero)
- Hematócrito, 0.500 (0.354 a 0.444)

Resultados en la orina:

- Glucosa, ++++ (normal −)
- Cetoácidos, ++++ (normal −)

Tratamiento

Las medidas iniciales de mayor importancia en el tratamiento de la cetoacidosis diabética son la administración por vía intravenosa de insulina y solución salina. Esta paciente recibió insulina por vía intravenosa (10 unidades/h) añadida a NaCl al 0.9%. No se administró glucosa sino hasta que la concentración de glucosa plasmática disminuyó por debajo de 15 mM. La insulina y la glucosa facilitan la entrada de K^+ hacia las células. También se administró con precaución KCl; las concentraciones plasmáticas de K^+ se vigilaron cada hora al inicio. La vigilancia continua de las cifras de K^+ tiene importancia extrema en el manejo de la cetoacidosis diabética porque el manejo inadecuado del balance de K^+ es la principal causa de muerte. No se necesita bicarbonato de manera sistemática, pero puede requerirse si la acidosis es muy grave.

Discusión

No se ha dilucidado la **causa** precisa de la diabetes mellitus tipo 1 (insulinodependiente), y está bajo intensa investigación. Han quedado comprendidos factores genéticos, ambientales e inmunitarios. Un esquema muy plausible de las cadenas de eventos es el que sigue. Quienes padecen este tipo de diabetes tienen una **susceptibilidad genética** (ha quedado implicado gran número de genes, incluso genes de histocompatibilidad localizados en el cromosoma 6), que puede predisponer a una **infección viral** (p. ej., por virus coxsackie o de la rubéola). La infección y la reacción inflamatoria consiguiente pueden alterar la antigenicidad de la superficie de las células B pancreáticas, y establecer una reacción autoinmunitaria que comprende tanto anticuerpos citotóxicos como linfocitos T. Esto finalmente lleva a destrucción difundida de las células beta, lo que da por resultado diabetes mellitus tipo 1. Quizá la **faringoamigdalitis** que presentó esta paciente varias semanas antes de la admisión reflejó la infección viral iniciadora.

La **hiperglucemia**, **glucosuria**, **cetonemia** y **cetonuria** notorias confirmaron el diagnóstico de cetoacidosis diabética. El **pH bajo** indicó acidosis grave debida a producción muy aumentada de ácido acetoacético y ácido β-hidroxibutírico. Las concentraciones de **bicarbonato**, y la PCO_2, bajas, confirmaron la presencia de una acidosis metabólica con compensación respiratoria parcial (la hiperventilación). El cálculo del **hiato aniónico** es útil en diversas situaciones metabólicas. En este caso está alto debido a la presencia de cetoácidos excesivos en la sangre. Hay varias otras causas de aumento del hiato aniónico, entre ellas acidosis láctica e intoxicación por metanol, etilén glicol y salicilatos.

Los valores altos de **urea** y **creatinina** indicaron algo de deterioro renal (por disminución del riego renal debido a volumen sanguíneo bajo secundario a deshidratación), deshidratación y degradación aumentada de proteína. En la cetoacidosis diabética a menudo se encuentra concentración plasmática alta de **potasio** debido a captación disminuida de este último por las células en ausencia de insulina. Así, el cuadro clínico en la cetoacidosis diabética refleja las anormalidades en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas que ocurren cuando las concentraciones plasmáticas de insulina están agudamente reducidas.

La **osmolalidad** aumentada del plasma debido a hiperglucemia también contribuye a la aparición de coma en la cetoacidosis diabética. Debe quedar de manifiesto que el tratamiento racional de cetoacidosis diabética depende de la familiaridad completa con las acciones de la insulina.

En la figura 54-11 se proporciona un esquema general de los eventos que ocurren en la cetoacidosis diabética.

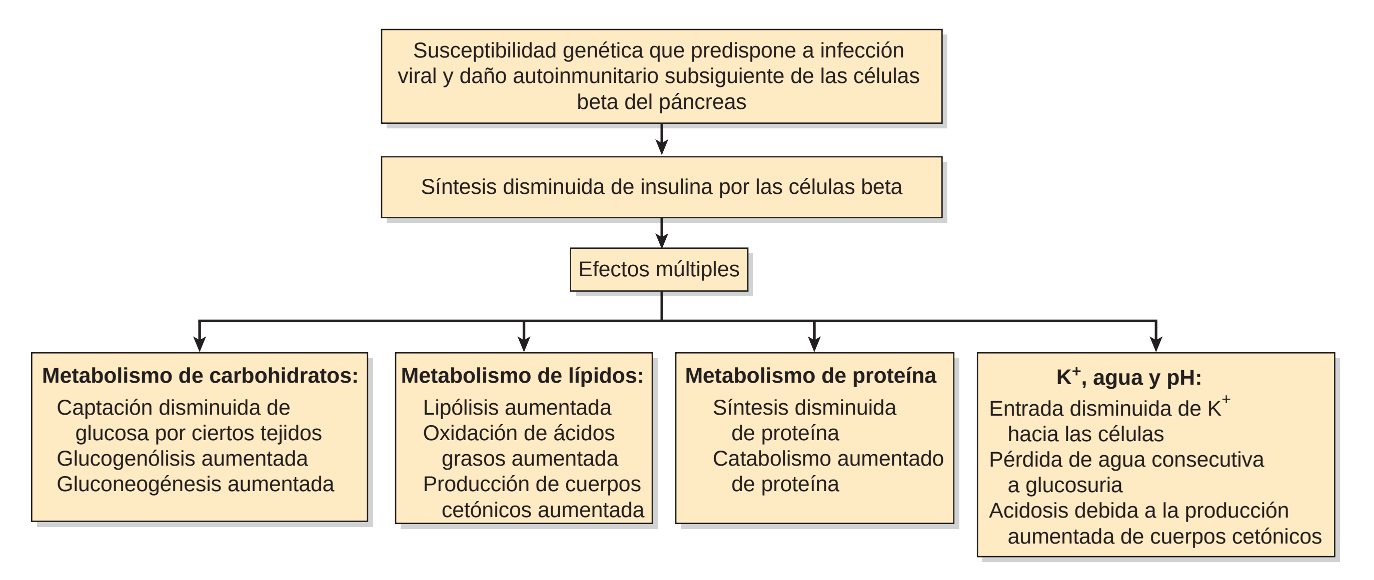


FIGURA 54-11 Resumen de algunos mecanismos comprendidos en la causa de la cetoacidosis de la diabetes mellitus tipo 1 (OMIM 222100).

CASO 7: DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE (DMD)

Causa

Genética (mutaciones en el gen que codifica para la proteína distrofina).

Interrogatorio y examen físico

Un niño de cuatro años de edad fue llevado a una clínica de hospital pediátrico. Su madre estaba preocupada porque había notado que su hijo estaba caminando torpemente, tenía caídas frecuentes y le resultaba difícil subir escaleras. No tenía hermanos, pero la madre tuvo uno que murió a los 19 años de edad por distrofia muscular. El pediatra en turno notó debilidad muscular en las cinturas tanto pélvica como escapular. También notó agrandamiento moderado de los músculos de la pantorrilla. Debido a la debilidad muscular y su distribución, el pediatra hizo un diagnóstico provisional de DMD.

Datos de laboratorio y otros datos

La actividad de la creatina cinasa (CK) en el suero estuvo notoriamente aumentada. Se decidió proceder de manera directa a análisis de mutación usando una muestra de los linfocitos del paciente. Esto mostró una deleción grande en el gen que codifica para distrofina, lo que confirmó el diagnóstico de DMD. Esto ahorró al paciente la práctica de pruebas mediante electromiografía, y de una biopsia muscular; estas pruebas, junto con inmunoelectrotransferencia Western para detección de distrofina, se efectuaban de manera sistemática antes de la disponibilidad de análisis de mutación, y aún pueden realizarse en ciertas circunstancias.

Discusión

El antecedente familiar, la distribución típica de la debilidad muscular, el aumento de la actividad de la CK en el suero, y los resultados del análisis de mutación confirmaron el diagnóstico provisional de DMD. Ésta es una grave enfermedad degenerativa del músculo, **ligada a X**. Tiene una prevalencia de alrededor de 1:3 500 varones nacidos vivos. Afecta a **niños de corta edad**, quienes primero muestran pérdida de la fuerza de los músculos proximales, lo que lleva a una marcha de pato, dificultad para ponerse de pie y finalmente debilidad muy intensa. La muerte por lo general ocurre por insuficiencia respiratoria.

La causa de la DMD se reveló en 1986 a 1987. Diversos estudios llevaron a la localización del defecto a la mitad del brazo corto del cromosoma X, y a identificación subsiguiente de un segmento de DNA que había sufrido **deleción** en pacientes con DMD. Al usar el segmento correspondiente sin deleción, de individuos normales, se aisló un cDNA derivado mediante transcripción inversa desde una transcripción (mRNA) de 14 kb que se expresó en el músculo esquelético fetal y de adulto. Éste se clonó y el producto proteínico se identificó como **distrofina**, una proteína en forma de red de 400 kDa, de 3 685 aminoácidos. La distrofina faltó o estuvo notoriamente reducida en electroforetogramas de extractos de músculo de pacientes con DMD, y de ratones con una distrofia muscular ligada a X. Se usaron anticuerpos contra distrofina para estudiar su localización en el músculo; la distrofina está asociada con el **sarcolema** (membrana plasmática) de músculo normal, y faltó o hubo notoria deficiencia de la misma en pacientes con DMD. Una reducción menos grave de la cantidad de distrofina, o un decremento de su tamaño, es la causa de la **distrofia muscular de Becker**, un tipo más leve de distrofia muscular. Mientras que las **deleciones** y **duplicaciones** de gen que se encuentran en la DMD tienden a causar mutaciones por cambio de cuadro, los mismos tipos de mutaciones en la MD de Becker por lo general son en cuadro y, así, la síntesis de distrofina no está tan afectada en esta última.

La distrofina parece tener cuatro dominios, dos de los cuales son similares a los dominios presentes en la actinina α (otra proteína muscular) y uno a un dominio en la espectrina, una proteína del citoesqueleto del eritrocito. La distrofina interactúa con la actina, sintrofina y β-distroglucano (fig. 49-11). No está clara su **función**, pero quizá participe en la emisión de señales transmembrana y en la estabilización del citoesqueleto y el sarcolema.

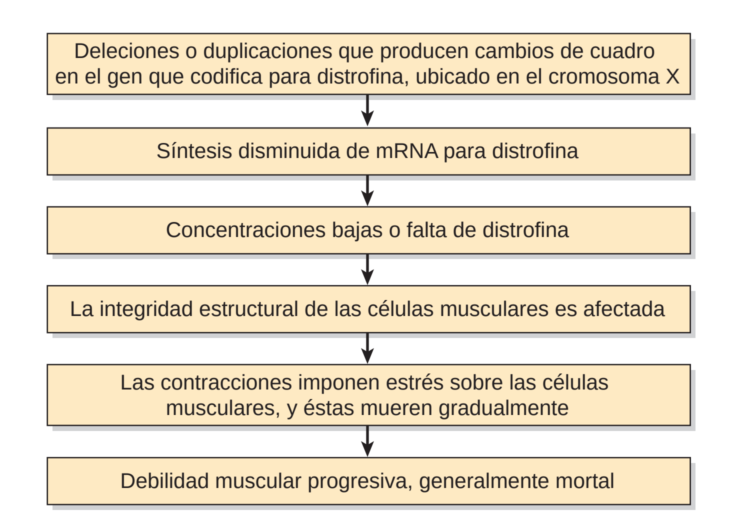


FIGURA 54-12 Resumen de los mecanismos involucrados en la causa de la distrofia muscular de Duchenne (OMIM 310200).

La deficiencia de distrofina puede afectar la integridad del sarcolema, lo que da por resultado aumento de la fragilidad osmótica del músculo distrófico, o permite el flujo excesivo de Ca^{2+} hacia adentro. El **gen** que codifica para distrofina es el gen de ser humano de mayor tamaño reconocido hasta la fecha (~ 2 500 kb, 79 exones), lo cual ayuda a explicar la observación de que aproximadamente una tercera parte de los casos de DMD son mutaciones nuevas. Se están haciendo intentos por **producir distrofina** mediante tecnología de DNA recombinante, y quizá finalmente administrarla a pacientes. La disponibilidad de **sondas** para distrofina facilita el **diagnóstico prenatal** de DMD mediante muestreo de vellosidades coriónicas o amniocentesis. La demostración de falta de distrofina como una causa de DMD ha sido uno de los principales logros de la aplicación de la biología molecular al estudio de enfermedades de seres humanos.

Hay muchos **tipos** de distrofia muscular. Se han elucidado las causas moleculares de muchos de ellos. No sorprende, tal vez, que se haya encontrado que se deben a diversas mutaciones en genes que codifican para proteínas musculares específicas, como las que se muestran en la figura 49-11 y otras no mostradas. Las diversas distrofias musculares pueden clasificarse con base en sus datos clínicos (p. ej., que afectan la cintura escapular o pélvica, etc.), o cada vez más con base en los genes o proteínas afectados por las mutaciones causales. La distrofina también se encuentra en el músculo cardiaco y en el cerebro. Su presencia en el primero puede dar por resultado **miocardiopatía**. La falta de distrofina en el cerebro da por resultado un IQ de menos de 75 que se observa en alrededor de 25% de los niños con DMD.

Tratamiento

En la actualidad no se dispone de una terapia específica para DMD. De este modo, el tratamiento en este caso fue en esencia **sintomático**. El niño quedó inscrito en una **clínica de distrofia muscular** especial; se empezó la administración de **prednisona** (que puede lentificar el progreso de la DMD durante algunos años), y se recomendó que se emprendiera **ejercicio** leve. Un **fisioterapeuta** estuvo disponible cuando fue necesario. Los **respiradores portátiles** han resultado muy útiles cuando la respiración está afectada. Se recomendó a la madre que buscara **consejo** genético respecto a embarazos futuros. En diferentes épocas se han usado diversas medidas terapéuticas dirigidas a beneficiar a pacientes con DMD, entre ellas se incluyen el uso de transferencia de mioblastos (para proporcionar distrofina), oligonucleótidos antisentido (para omitir exones de gen que codifica para distrofina mutados), CoE Q10 (para posiblemente aumentar la fuerza muscular), monohidrato de creatina (para quizá ayudar a construir masa muscular), pentoxifilina (antiinflamatorio), y gentamicina (puede hacer caso omiso de codones de detención prematuros en el gen que codifica para distrofina). Ninguna parece haber sido muy exitosa: en enero de 2008 en EUA estaba programado el inicio de un estudio pequeño usando transferencia de gen que codifica para distrofina.

En la figura 54-12 se resumen los mecanismos involucrados en la causa de la DMD.

CASO 8: INTOXICACIÓN POR ETANOL, AGUDA

Causa

Química (debida a ingestión excesiva de etanol).

Interrogatorio y examen físico

Un varón de 52 años de edad fue admitido a la sala de urgencias en coma. Al parecer, había presentado depresión cada vez más intensa tras la muerte de su esposa un mes antes. Antes de la muerte de la mujer él había sido un bebedor moderado, pero su consumo de alcohol había aumentado de manera notoria durante las últimas semanas. También había estado comiendo mal. Su hija casada había ido a verlo la mañana del domingo, y lo había encontrado inconsciente en el sofá de la sala; se encontraron dos botellas vacías de whisky de centeno en la mesa de la sala. En el examen, resultó imposible despertarlo, la respiración era profunda y ruidosa, podía percibirse aliento alcohólico, y la temperatura era de 35.5°C (normal: 36.3 a 37.1°C). El diagnóstico en el momento de la admisión fue coma debido a ingestión excesiva de alcohol.

Datos de laboratorio

Los resultados de laboratorio pertinentes fueron: alcohol, 500 mg/dl; glucosa, 2.7 mmol/L (normal: 4.2 a 6.1); lactato, 8.0 mmol/L (normal: 0.5 a 1.6), y pH sanguíneo, 7.21 (normal: 7.35 a 7.45).

Estos resultados fueron congruentes con el diagnóstico de admisión, acompañado de acidosis metabólica.

Tratamiento

Se inició administración de solución salina normal por vía intravenosa, y después, debido a la concentración muy alta de alcohol en la sangre y el coma, se decidió empezar **hemodiálisis** de inmediato. Esto elimina de manera directa el etanol tóxico del cuerpo, pero sólo se requiere en casos muy graves de toxicidad por etanol. En este caso, la concentración de alcohol en la sangre disminuyó con rapidez y el paciente recuperó el conocimiento más tarde el mismo día. Después de que se suspendió la diálisis se administró **glucosa** (al 5%) por vía intravenosa a fin de contrarrestar la hipoglucemia que mostró este paciente. El sujeto tuvo una buena recuperación y se le remitió para **orientación psiquiátrica**.

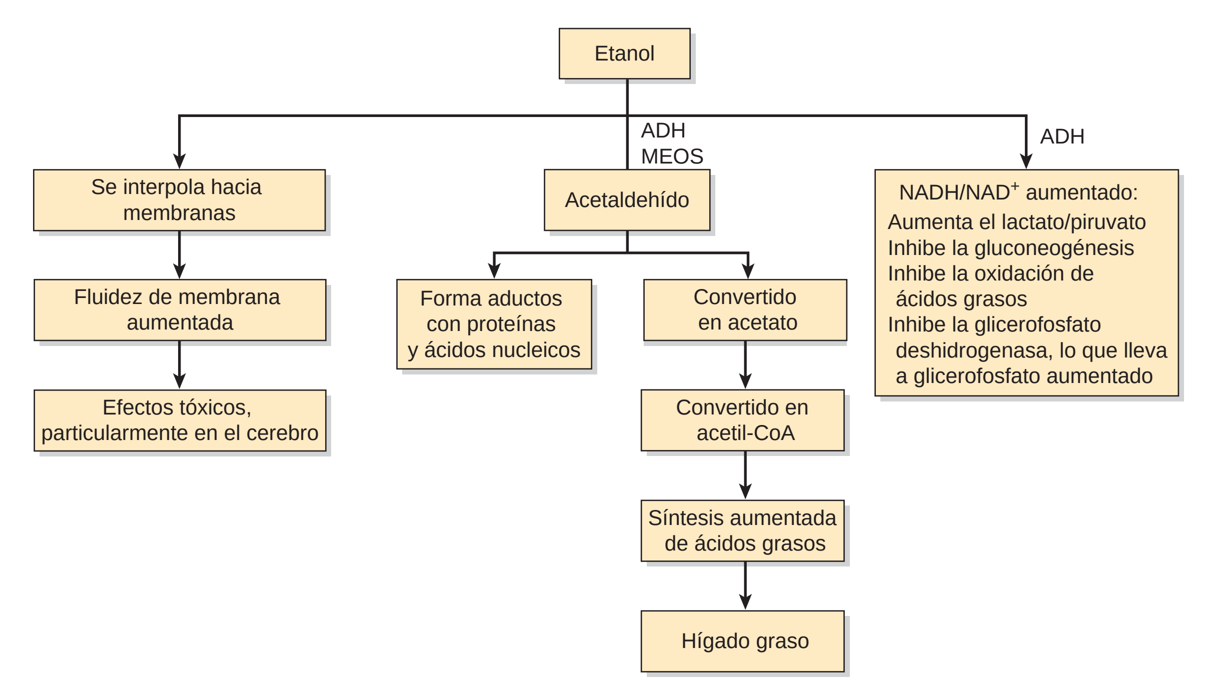


FIGURA 54-13 Resumen de algunos mecanismos involucrados en la toxicidad aguda por etanol. (ADH, alcohol deshidrogenasa; MEOS, sistema oxidante de etanol microsómico, que comprende la especie de citocromo P-450 CYP2E1.)

Discusión

El consumo excesivo de alcohol es un importante problema de salud en casi todas las sociedades. El presente caso aborda los efectos tóxicos agudos de la ingestión de una cantidad muy grande de etanol. Un problema relacionado, que no se comenta aquí, pero que tiene muchos aspectos bioquímicos, es la aparición de **cirrosis hepática** en sujetos que mantienen una ingestión alta de etanol (p. ej., 80 g de etanol absoluto al día durante más de 10 años).

Desde un punto de vista bioquímico, la principal pregunta respecto al presente caso es de qué modo el etanol produce sus diversos efectos agudos, entre ellos coma, acidosis láctica e hipoglucemia. El punto de vista clínico es cómo tratar mejor este estado.

El metabolismo del etanol se describió en el capítulo 25; ocurre principalmente en el hígado y comprende dos rutas. La primera ruta, y la principal, utiliza **alcohol deshidrogenasa** y **acetaldehído deshidrogenasa**, que convierten el etanol mediante acetaldehído en acetato (cap. 25), que después se convierte en acetil-CoA. En estas dos reacciones se producen NADH + H^+. Así, la ingestión de grandes cantidades de etanol puede aumentar de manera apreciable la **proporción de NADH/NAD$^+$** intracelular. A su vez, esto puede afectar la Keq de varias de las reacciones metabólicas importantes en las que se usan estos cofactores. Las concentraciones altas de NADH favorecen la **formación de lactato** a partir de piruvato, lo que explica la acidosis láctica. Esto disminuye la concentración de piruvato (requerido para la reacción de la **piruvato carboxilasa**, cap. 17) y, así, **inhibe la gluconeogénesis**. En casos graves, cuando el glucógeno hepático está agotado y ya no está disponible para glucogenólisis, sobreviene **hipoglucemia**. La segunda ruta comprende un **citocromo P450 microsómico** (sistema oxidante de etanol microsómico), que también produce acetaldehído (cap. 25). El **acetaldehído** es una molécula muy reactiva y puede formar aductos con proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas. Parece probable que su capacidad para reaccionar con diversas moléculas está involucrada en la causa de los efectos tóxicos del etanol. El etanol también parece ser capaz de **interpolarse hacia membranas biológicas**, lo que las expande y aumenta su fluidez. Cuando las membranas afectadas son excitables, esto origina alteraciones de sus potenciales de acción, modifica el transporte a través de ellas, y afecta también la liberación de neurotransmisor. Todos éstos deprimen la función cerebral y, si la depresión es suficientemente grave, pueden producir coma y muerte por parálisis respiratoria.

En la figura 54-13 se resumen algunos de los principales mecanismos involucrados en la causa de la toxicidad por etanol.

CASO 9: GOTA AGUDA

Antes de estudiar este caso se recomienda al lector que consulte el material sobre ácido úrico en el capítulo 33.

Causa

El depósito de cristales de urato monosódico (MSU) en una o más articulaciones y diversos tejidos. La mayor parte de los casos (~ 90%) se relaciona con decremento de la excreción renal de MSU, pero en ciertos casos está involucrada producción aumentada de MSU, y puede participar el incremento de la ingestión de purinas en la dieta.

Interrogatorio y examen físico

Un varón de 64 años de edad, moderadamente obeso, acudió a la sala de urgencias quejándose de dolor intenso de 12 h de duración en el dedo gordo izquierdo. Declaró que de forma regular tomaba al menos dos a tres tragos de whisky escocés cada tarde después de trabajar. No tuvo otros antecedentes médicos de importancia. En el examen, se encontró que el dedo gordo estaba rojo y bastante

hinchado alrededor de la articulación metacarpofalángica, además de que mostraba sensibilidad extrema. No hubo evidencia de artritis en otro sitio. Debido a los datos del interrogatorio y a la localización de la articulación afectada, la interna de guardia sospechó que el paciente estaba presentando un ataque de gota aguda. Solicitó varias pruebas de laboratorio, incluso un recuento leucocítico, cuantificación del ácido úrico sérico y examen radiográfico de la articulación afectada. La concentración sérica de ácido úrico fue de 0.61 mmol/L (normal: 0.18 a 0.41 mmol/L en varones); el recuento leucocítico estuvo en el límite normal superior. Los datos radiográficos fueron inespecíficos; no hubo indicio evidente de artritis crónica. Con anestesia local, se efectuó artrocentesis en la articulación afectada, se extrajo una pequeña cantidad de líquido sinovial, y se envió al laboratorio para detección de células y cristales. Se detectaron cristales de MSU en forma de aguja típicos, que mostraron birrefringencia negativa en el líquido sinovial, al igual que neutrófilos.

Tratamiento

Se inició tratamiento con una dosis idónea de un **antiinflamatorio no esteroideo** (AINE) para aliviar la inflamación y el dolor agudos. Se remitió al paciente con una reumatóloga para tratamiento continuo; la reumatóloga continuó la administración del AINE. Varios meses más tarde el paciente tuvo otro ataque agudo de dolor articular, esta vez en la rodilla derecha. La concentración plasmática de ácido úrico fue de 0.57 mmol/L. Se midió la **excreción diaria de ácido úrico** y se encontró que era de ~ 9.0 mmol (~ 1 500 mg) (normal: 3.6 a 5.4 mmol/día). La reumatóloga decidió iniciar terapia a largo plazo con **alopurinol**, fármaco que se usa para disminuir la formación de ácido úrico al inhibir la xantina oxidasa, la enzima de la cual depende la formación de ácido úrico a partir de xantina (cap. 33). Además, se remitió al paciente con una dietista a fin de que lo orientara para que perdiera peso, y se le recomendó que bebiera suficientes líquidos, que limitara de manera significativa su ingestión de alcohol y restringiera la ingestión de alimentos ricos en purina (p. ej., anchoas y carne roja); asimismo, se inició un programa de ejercicio regular. Hasta el momento actual, el paciente no había tenido más ataques de artritis aguda.

Discusión

El **ácido úrico** se forma a partir de nucleósidos purina (p. ej., adenosina y guanosina) producidos por la desintegración de ácidos nucleicos y otras moléculas (p. ej., ATP), y en seres humanos es el producto terminal del catabolismo de la purina. Se estima que el índice de síntesis diaria es de alrededor de 1.8 mmol (~ 300 mg), con un fondo común corporal total de aproximadamente 7.2 mmol (1 200 mg en varones adultos y alrededor de la mitad en las mujeres). En individuos con gota del fondo común puede ser de hasta 180 mmol (30 000 mg).

La enzima involucrada en la formación de ácido úrico es la xantina oxidasa (cap. 33). Los seres humanos carecen de la enzima peroxisómica uricasa (urato oxidasa), que participa en la degradación de ácido úrico hacia alantoína. Alrededor de 70% del ácido úrico se excreta por los riñones, y el resto por el intestino. El ácido úrico muestra **propiedades antioxidantes** (cap. 45); se está investigando la posible importancia de esto.

La **gota** es un tipo de artritis, aguda o crónica, debida a depósito de cristales de MSU por lo general en áreas relativamente avasculares, como cartílago y tejidos alrededor de articulaciones, y donde la temperatura corporal es más baja (p. ej., los pabellones auriculares, los extremos distales de las extremidades). El depósito de cristales de MSU en el líquido sinovial desencadena una reacción inflamatoria. En la gota aguda, consta principalmente de neutrófilos. La reacción inflamatoria causa los signos y síntomas característicos de aumento local de la temperatura, dolor, hinchazón y enrojecimiento que se experimentan en la gota aguda. Por lo general es importante verificar que en realidad haya los cristales de MSU característicos en el líquido sinovial de una articulación afectada, puesto que otros cristales (p. ej., pirofosfato de calcio) pueden causar signos y síntomas similares a la gota. Al principio por lo general sólo está afectada una articulación (esto es, artritis monoarticular), a menudo la metacarpofalángica del dedo gordo, como en este caso. Un factor que ayuda a explicar esto es que la temperatura de las articulaciones de las extremidades inferiores es más baja que en otros sitios del cuerpo.

El MSU tiene una solubilidad en el plasma de ~ 0.42 mmol/L a 37°C. Es mucho más soluble que el ácido úrico, que es la principal especie iónica por debajo de pH de 5.75 (el valor de pKa para la disociación de ácido úrico hacia urato). Esta diferencia es en particular importante en la **orina**, donde pueden formarse **cálculos** de ácido úrico a valores de pH ácidos. Cuando se excede la concentración anterior, el plasma queda supersaturado respecto a MSU. La concentración a la cual ocurre precipitación de MSU en los tejidos y las articulaciones parece variar, por razones desconocidas. Antes de que se dispusiera de tratamientos para prevenir gota crónica (p. ej., alopurinol, véase más adelante), se acumularían grandes agregados de MSU en diversos tejidos; éstos se llaman **tofos** y pueden alcanzar un tamaño considerable. Aún pueden ocurrir tofos si la gota no se diagnostica y trata en etapas tempranas.

La gota por lo general va precedida y acompañada por **hiperuricemia** (concentración plasmática de ácido úrico > 0.41 mmol/L). A menudo está comprendida la secuencia que se muestra en la figura 54-14. La gota crónica se puede prevenir si se instituye tratamiento apropiado después de un ataque de gota aguda. La hiperuricemia es mucho más frecuente en **varones**, aunque su incidencia en mujeres aumenta después de la menopausia. Cabe hacer notar que alrededor de 30% de quienes experimentan un ataque de gota puede tener concentraciones normales de MSU en el plasma. La **hiperuricemia** se produce por decremento de la excreción renal, producción incrementada, o ingestión aumentada de ácido úrico. La mayor parte de los casos de gota comprende **excreción renal disminuida**, y probablemente estén involucrados factores genéticos. Muchas enfermedades renales afectan la excreción renal, al igual que la acidosis causada por diversos estados o enfermedades metabólicos. Diversos fármacos (p. ej., ciertos diuréticos y salicilatos) interfieren con la excreción de ácido úrico. La manipulación del MSU por los riñones es compleja, e incluye fases de filtración glomerular, resorción, secreción, y resorción adicional en diversas partes del túbulo renal. Hasta ahora no se han definido con claridad las contribuciones precisas de

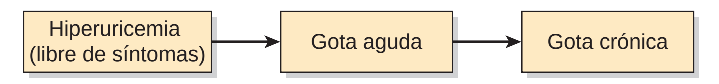


FIGURA 54-14 Una secuencia común de eventos que lleva a gota crónica.

las alteraciones de estas fases a la causa de la hiperuricemia. Puede ocurrir **producción aumentada** debido a ciertas anormalidades enzimáticas (p. ej., deficiencia de hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa [HGPRT] y actividad excesiva de PRPP sintetasa), aunque éstas son raras (cap. 33). El síndrome de Lesch-Nyhan involucra mutaciones del gen que codifica para HGPRT (cap. 33), y la gota puede ser una característica. La muerte de células cancerosas causada por quimioterapia lleva a degradación de sus ácidos nucleicos y, así, a formación aumentada de purinas. El **incremento de la ingestión** puede ocurrir por ingestión de alimentos ricos en purina, como mollejas y ciertas carnes, aunque no se cree que éste sea un contribuidor importante al aumento del ácido úrico sérico.

Desde hace mucho tiempo se ha reconocido la participación de la **ingestión de alcohol** en la precipitación de gota. La ingestión de etanol puede llevar a la formación de ácido láctico, que inhibe la secreción de ácido úrico. Además, el etanol parece promover la desintegración de ATP, lo que lleva a producción aumentada de purinas a partir de las cuales se forma ácido úrico. Asimismo, la solubilidad del MSU se aminora de forma notoria a medida que disminuye el pH en los tejidos, situación favorecida por el incremento de la producción de ácido láctico.

Los pacientes con gota crónica suelen presentar **cálculos renales (cálculos de urato)**; el riesgo de éstos disminuye mediante terapia con alopurinol.

Para **tratamiento** de la inflamación y el dolor agudos propios de la gota aguda, por lo general se usa un AINE. La **colchicina** también es eficaz para bloquear la inflamación causada por cristales de MSU. Se une a la tubulina libre, lo que causa la despolimerización de microtúbulos (cap. 49); esto puede prevenir el movimiento de neutrófilos hacia un área que contiene cristales de MSU. Sin embargo, puede causar náuseas y vómitos. Asimismo, es posible emplear un **corticosteroide** o **ACTH** por sus efectos antiinflamatorios. Para el manejo a largo plazo, que tiene el propósito de prevenir o revertir cualesquiera complicaciones que puedan haber surgido, se usa **alopurinol** para inhibir de manera crónica la producción de ácido úrico a partir de xantina.

En lugar de alopurinol pueden usarse fármacos **uricosúricos** (que aumentan el índice de excreción de ácido úrico) si está comprendida excreción insuficiente de urato; éstos incluyen probenecid, sulfinpirazona y benzbromarona. Cualquier **enfermedad** o **estado acompañante** se debe abordar (p. ej., obesidad, hipertensión, hipertrigliceridemia, alcoholismo, enfermedad renal). Si la gota se trata en etapas tempranas es compatible con un lapso de vida normal.

En la figura 54-15 se muestra un esquema simplificado de la causa de la gota aguda.

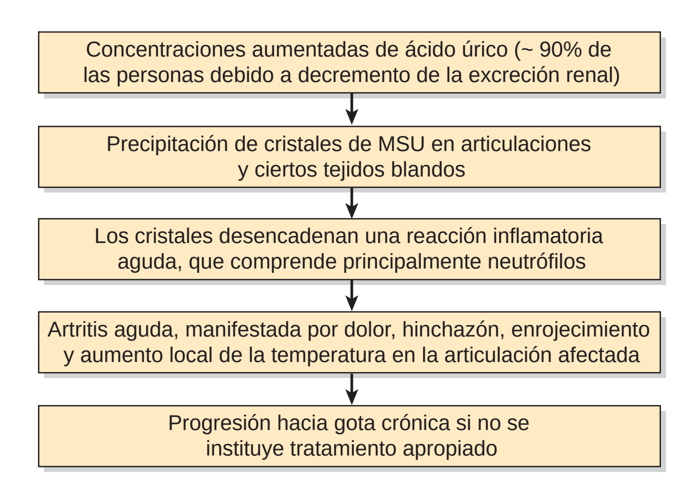


FIGURA 54-15 Esquema simplificado de algunos de los eventos comprendidos en la causa de la gota.

CASO 10: HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA

Causa

Genética (debido a mutaciones del gen *HFE* o algunos otros genes cuyos productos proteínicos afectan el metabolismo del hierro).

Interrogatorio y examen físico

Un varón de 50 años de edad visitó a su médico familiar quejándose de fatiga, libido baja, y dolores articulares generalizados moderados, de aproximadamente un año de duración. Los dolores articulares afectaron principalmente los dedos de la mano, las muñecas, las caderas, rodillas y tobillos. Sus padres, ambos ya fallecidos, nacieron en Escocia pero emigraron a Canadá al principio de su adultez. El paciente no tenía hermanos, y no fumaba ni bebía. Ocasionalmente tomaba acetaminofén para aliviar los dolores articulares, pero por lo demás no estaba recibiendo medicamento alguno. Un tío había muerto por cáncer de hígado unos 10 años antes. Además de rigidez e hinchazón leve sobre algunas articulaciones, el médico notó una pigmentación grisácea de la piel, más notoria en las partes expuestas, y por esa razón envió al paciente con un internista, quien también notó que el borde del hígado era firme y palpable justo por debajo del borde costal. El internista sospechó hemocromatosis hereditaria y solicitó análisis de laboratorio apropiados, así como radiografías de las manos, las caderas, las rodillas y los tobillos.

Datos de laboratorio

Los valores de referencia normales están entre paréntesis:

- Hb, 120 g/L (133 a 162 g/L, varones)
- Eritrocitos, 4.6 × 10^{12}/L (4.30 a 5.60 ×10^{12}/L, varones)
- Glucosa (en ayuno), 5 mmol/L (4.2 a 6.1 mmol/L)
- Alanina aminotransferasa [ALT], 1.8 μkat/L o 105 unidades/L (0.12–0.70 μkat/L o 7 a 41 unidades/L)
- Hierro plasmático, 50 μmol/L (7 a 25 μmol/L)
- Capacidad total de unión a hierro, 55 μmol/L (45 a 73 μmol/L)
- Saturación de transferrina con hierro, 82% (16 a 35%)
- Ferritina sérica, 3 200 μg/L, (29 a 248 μg/L, varones)

Las radiografías de las articulaciones mostraron pérdida del cartílago articular, estrechamiento de los espacios articulares y desmineralización difusa.

En vista de los datos anteriores, se decidió efectuar una **biopsia hepática**. El examen histológico reveló fibrosis periporta moderada. La hemosiderina (agregados de micelas de ferritina) fue visible como gránulos de color dorado pardo en células epiteliales tanto del parénquima como de conductos biliares; con tinción con azul de Prusia, el hierro fue notoriamente visible en estas células. La medición cuantitativa del hierro en el material de biopsia reveló un noto-

rio aumento del hierro (8 100 μg por gramo de peso seco; normal: 300 a 1 400 μg). Los datos de laboratorio y otros datos fueron congruentes con el diagnóstico de hemocromatosis hereditaria.

Tratamiento

El tratamiento de la hemocromatosis hereditaria es relativamente sencillo; consta de extracción de sangre del paciente hasta que el exceso de hierro en el cuerpo disminuye hasta cifras cercanas a lo normal. Esto se logra inicialmente por medio de **flebotomía** semanal de aproximadamente 500 ml de sangre (250 mg de hierro). La eficacia del tratamiento se evalúa mediante vigilancia mensual de la ferritina y la saturación de transferrina séricas. Una vez que estos parámetros han alcanzado cifras satisfactorias, sólo se requiere flebotomía una vez cada tres meses.

Rara vez se necesita **terapia de quelación** (p. ej., con deferoxamina), y es mucho más cara, así como menos eficaz que la flebotomía. Deben evitarse los alimentos con alto contenido de hierro.

Las **complicaciones**, como cirrosis hepática, diabetes mellitus, esterilidad, y problemas cardiacos se deben tratar de manera apropiada. Se recomiendan **pruebas de detección** en miembros de la familia a fin de darles tratamiento temprano si es necesario. Si la enfermedad se reconoce en etapas tempranas (p. ej., antes de que sobrevenga cirrosis hepática), el pronóstico es excelente. En pacientes con cirrosis puede aparecer **carcinoma hepatocelular**. La **artropatía** propia de la hemocromatosis no muestra buena respuesta al tratamiento, y puede continuar de manera inexorable pese a la normalización de los parámetros de hierro corporal.

Discusión

La característica clave de la hemocromatosis es un **aumento del hierro corporal total** suficiente para causar daño de tejidos. El hierro corporal total varía entre 2.5 y 3.5 g en adultos normales; en la hemocromatosis por lo general excede 15 g. Una combinación de hepatomegalia, pigmentación de la piel, diabetes mellitus, enfermedad del corazón, artropatía e hipogonadismo debe sugerir la enfermedad. Las cifras altas de **saturación de transferrina** y de **ferritina** sérica son los análisis más útiles para el **diagnóstico**. Dado que la **cirrosis** es un determinante importante del resultado clínico, una **biopsia hepática** tiene importancia si el diagnóstico de hemocromatosis no se efectúa en etapas tempranas de la evolución de la enfermedad. El **diagnóstico temprano** es crucial para prevenir complicaciones como cirrosis y cáncer hepático, y exige un **alto índice de sospecha**.

La hemocromatosis puede ser **hereditaria** o **secundaria** a diversas causas (p. ej., enfermedades que requieren transfusiones sanguíneas, y sobrecarga de la dieta en partes de África donde la cerveza se elabora en recipientes de hierro). En la hemocromatosis hereditaria, la **absorción** de hierro desde el intestino delgado está muy aumentada (véase más adelante). No hay una vía para eliminar el hierro excesivo, y la solubilidad del hierro férrico es baja. El hierro acumulado daña órganos como el hígado, los islotes pancreáticos, y el corazón; se cree que tiene importancia en el daño de tejido (p. ej., cirrosis), quizá debido en parte a efectos sobre la producción de radicales libres (cap. 45). Se acumulan melanina y diversas cantidades de hierro en la piel, lo que explica el color azul pizarra que suele observarse. No está clara la causa precisa de la acumulación de melanina. La coexistencia frecuente de diabetes mellitus (debido a daño de los islotes) y la pigmentación de la piel llevaron al uso del término **diabetes bronceada** para la hemocromatosis hereditaria.

La hemocromatosis hereditaria es un trastorno **autosómico recesivo** prevaleciente. Es frecuente en Europa (frecuencia de portador de alrededor de 1:10), particularmente en Irlanda y Escocia, y los emigrantes desde estos países han contribuido a la diseminación mundial del gen afectado. Desde 1976 se ha sabido que hay una relación entre antígenos HLA y hemocromatosis hereditaria. En 1996, Feder y colegas **aislaron un gen**, ahora conocido como ***HFE***, localizado en el cromosoma 6 (6p21.3) aproximadamente a tres a cinco telómeros desde los genes que codifican para el complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Se halló que el producto codificado se relaciona con los antígenos clase 1 del MHC. Se ha encontrado que el *HFE* muestra tres mutaciones de sentido erróneo en individuos con hemocromatosis primaria. La mutación más frecuente fue aquella que cambió el residuo cisteinil 282 en un residuo tirosil (CY282Y), lo que altera la estructura de la proteína; la otra mutación cambió el residuo histidil 63 en un residuo aspartil (H63D). La incidencia de estas dos mutaciones varía en diferentes grupos étnicos. El CY282Y es menos frecuente en italianos que en habitantes del norte de Europa. También se ha encontrado una tercera mutación menos frecuente (S65C), pero todavía no se ha estudiado con tanto detalle. Un pequeño grupo de individuos son heterocigotos compuestos (C282Y/H63D). Algunos pacientes con hemocromatosis primaria no tienen ninguna de las mutaciones anteriores, quizá porque ocurren otras mutaciones en el *HFE*, o porque hay afección de uno o más otros genes involucrados en el metabolismo del hierro (p. ej., genes que codifican para hepcidina, hemojuvelina, ferroportina; receptor de transferrina 2 y ferritina, cap. 50).

La **penetrancia** de la hemocromatosis es baja, y es más baja en mujeres que en varones. La penetrancia es la fracción de individuos con un genotipo que se sabe que causa una enfermedad, que tienen signos o síntomas de esta última.

Se han evaluado **análisis genéticos**, pero en la actualidad no se recomiendan, salvo en miembros de familias. Las pruebas para mutaciones de *HFE* en individuos con cifras séricas altas de hierro pueden ser útiles.

Aún no se ha averiguado cómo el producto proteínico (HFE) del gen *HFE* funciona en la absorción de hierro. Se ha mostrado que el HFE está localizado en la superficie de las células en las criptas del intestino delgado, donde se asocia con microglobulina β_2 y el receptor de transferrina-1 (TfR1). Esta interacción se altera cuando ocurre la mutación CY282Y, probablemente porque el HFE no llega a la superficie celular. Se postula que esto de alguna manera da por resultado regulación ascendente del **transportador metálico divalente (DMT1)** (fig. 50-4), lo que lleva a captación aumentada de hierro desde el intestino delgado por células de las vellosidades.

La **hepcidina** parece tener una participación clave en el transporte de hierro. Es un péptido de 25 aminoácidos sintetizado por las células hepáticas, y secretado hacia la sangre. **Inhibe la absorción de hierro por los enterocitos**, y **libera el hierro desde macrófagos**. Hace esto al **inhibir a la ferroportina**, presente en estos dos tipos de célula. La ferroportina es la proteína en estas células que se encarga de la exportación de hierro hacia la sangre. La concentración de hepcidina está disminuida en la hemocromatosis hereditaria, lo que permite aumento de la absorción de hierro. Las concentraciones de hepcidina parecen estar reguladas por HFE, por hemojuvelina y por

Mutaciones en *HFE*, ubicado en el cromosoma 6p21.3, que llevan a anormalidades de la estructura de su producto proteínico

↓

El HFE no llega a la superficie de las células afectadas (p. ej., enterocitos)

↓

De alguna manera esto origina síntesis disminuida de hepcidina, que lleva a incremento de la actividad de ferroportina, lo que permite aumento de la entrada de hierro hacia el torrente sanguíneo desde el intestino delgado

↓

Acumulación de hierro en diversos tejidos, pero en particular el hígado, los islotes pancreáticos, la piel y el músculo cardiaco

↓

El hierro de manera directa o indirecta causa daño de los tejidos anteriores, lo que da por resultado cirrosis hepática, diabetes mellitus, pigmentación cutánea y problemas cardiacos

FIGURA 54-16 Esquema tentativo de los principales eventos en la causa de la hemocromatosis hereditaria (OMIM 235200). Las dos mutaciones principales son CY282Y y H63D (véase el texto). Mutaciones en genes que no son el *HFE* también causan hemocromatosis. Debe consultarse la figura 50-4, que muestra diversas proteínas involucradas en el transporte de hierro.

el receptor de transferrina 2 (TfR2), aunque quedan por descubrir los detalles de estos controles.

En la figura 54-16 se presenta un esquema tentativo de los principales eventos en la causa de la hemocromatosis hereditaria.

CASO 11: HIPOTIROIDISMO PRIMARIO

Antes de estudiar este caso, se recomienda al lector que consulte el material que aparece en el capítulo 41 respecto a la glándula tiroides.

Causa

El hipotiroidismo primario es un estado debido a deficiencia de las hormonas tiroideas, por lo general debido a función alterada, daño o extirpación quirúrgica de la glándula tiroides. Las causas específicas se comentan más adelante.

Interrogatorio, examen físico y pruebas de laboratorio

Una mujer de 57 años de edad visitó a su médico familiar quejándose de fatiga crónica y aletargamiento durante varios años; ésta fue su primera visita a su médico en cinco años. Al interrogarla, se recabó un antecedente de estreñimiento y de sensación de frío (intolerancia al frío). La paciente tenía dos hijos adultos; su último periodo menstrual había ocurrido unos siete años antes. Una hermana tuvo anemia perniciosa, y una tía materna había tenido "un problema de la tiroides".

El examen reveló obesidad moderada. La mujer respondió a las preguntas con lentitud, con poco cambio de la expresión; la voz sonaba áspera, y la lengua parecía estar moderadamente tumefacta. También fue evidente algo de abotagamiento alrededor de las mejillas. La palpación del cuello reveló que la tiroides tenía consistencia más bien firme, y estaba moderadamente agrandada. La presión arterial estuvo levemente alta, y los reflejos tendinosos profundos estuvieron retardados. En la figura 54-17 se resumen algunos datos clínicos en un caso de hipotiroidismo. Con base en el interrogatorio y el examen clínico, el médico sospechó que la mujer tenía hipotiroidismo. Ordenó varias pruebas para investigar esta posibilidad; a continuación se presentan los resultados importantes:

- Hormona estimulante de la tiroides (TSH): 20 mIU/L (rango normal: 0.34 a 4.25 mIU/L)
- Tiroxina (T_4) libre: 4.0 pmol/L (normal: 10.3 a 21.9 pmol/L)
- Anticuerpos contra tiroperoxidasa (anti-TPO): ++++ (normal: trazas)
- Colesterol total: 6.20 mmol/L (normal: < 5.17 mmol/L)
- Radiografía de tórax: reveló un pequeño derrame pericárdico
- ECG: reveló bradicardia y complejos de bajo voltaje, pero no evidencia de isquemia o arritmias
- Hemoglobina y recuento eritrocítico: resultados congruentes con anemia normocítica leve

Tratamiento

El interrogatorio, el examen físico y los resultados de laboratorio fueron congruentes con hipotiroidismo primario. En consecuencia, se inició tratamiento con una dosis baja de tiroxina (T_4). Tiene impor-

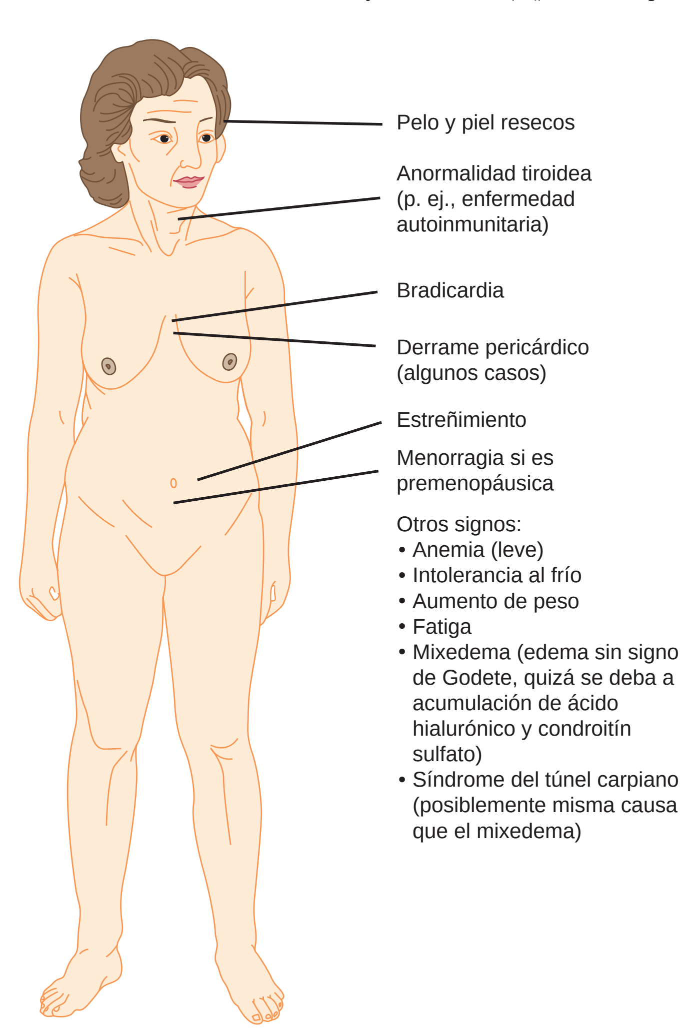


FIGURA 54-17 Algunos de los principales signos de hipotiroidismo.

tancia empezar la terapia con una pequeña dosis de T_4, puesto que las dosis de mayor tamaño pueden precipitar eventos cardiacos serios, debido a los cambios del metabolismo causados por la administración de la hormona; la dosificación de T_4 se aumenta de manera gradual a intervalos de seis a ocho semanas, hasta un máximo de aproximadamente 125 μg. El progreso se evalúa mediante valoraciones de TSH, que finalmente deben declinar hasta el rango normal y sostenerse ahí. Las evaluaciones regulares son importantes. Una vez que se inicia, la terapia con T_4 por lo general se continúa de por vida.

Discusión

El hipotiroidismo **primario** es una enfermedad relativamente **prevaleciente**, y quizá es el problema endocrino que se observa más a menudo (excluyendo la diabetes mellitus) en la práctica clínica. La causa más frecuente en todo el mundo es la **ingestión deficiente de yodo**. En la parte no latina de América (como en el presente caso) y en otros países desarrollados, una causa importante es la **enfermedad de Hashimoto**, una enfermedad autoinmunitaria que afecta la tiroides. **Otras causas** son ablación de la tiroides con ^{131}I, extirpación quirúrgica de la tiroides, y el uso de fármacos para tratar hipertiroidismo. Es más frecuente en **mujeres** que en varones. En este caso, el diagnóstico fue relativamente fácil debido a los datos en el interrogatorio y clínicos clásicos. Sin embargo, a menudo tiene un **inicio insidioso**; aparece de manera gradual con los años, y puede no considerarse. Puede estar justificado efectuar una valoración sistemática de la TSH en todas las personas de más de 35 años de edad, pero aún no hay consenso respecto a esto.

El hipotiroidismo **secundario** es mucho menos frecuente, y se debe a decremento de la secreción de TSH por diversos estados patológicos que afectan la hipófisis. La enfermedad del **hipotálamo** puede causar hipotiroidismo **terciario** debido a secreción disminuida de la hormona liberadora de tirotropina (TRH) hipotalámica. El hipotiroidismo **congénito** por lo general se debe a diversos bloqueos en la manufactura de hormonas tiroideas, y puede dar por resultado **cretinismo** si no se diagnostica en etapas tempranas y se trata de manera apropiada. En la parte no latina de América y en muchos otros países en todos los recién nacidos se investigan las concentraciones de TSH en el momento del nacimiento.

La detección de concentraciones aumentadas de **TSH** sérica es el análisis más útil para hipotiroidismo. A medida que las concentraciones de hormonas tiroideas (T_4, T_3) circulantes disminuyen debido a destrucción de la tiroides en la enfermedad de Hashimoto, la inhibición por retroacción sobre la hipófisis declina, y las concentraciones de TSH aumentan.

La presencia de **TSH alta** y **T_4 disminuida** es muy indicativa de hipotiroidismo. En la **enfermedad de Hashimoto** la glándula tiroides queda densamente infiltrada por **linfocitos** y otras células inflamatorias, que destruyen de manera gradual, y remplazan gran parte de la glándula; ello origina un decremento progresivo de la secreción de las hormonas tiroideas (cap. 41), lo que causa el estado hipotiroideo. Los linfocitos incluyen células T $CD4^+$ activadas específicas para diversos antígenos tiroideos. **Varios autoanticuerpos** pueden detectarse en el suero de pacientes con enfermedad de Hashimoto; entre éstos en la actualidad suelen medirse los **anticuerpos contra tiroperoxidasa (anti-TPO)**, que sirven como marcadores de enfermedad de Hashimoto. Muy a menudo hay un **antecedente familiar** de la enfermedad o de otras enfermedades autoinmunitarias,

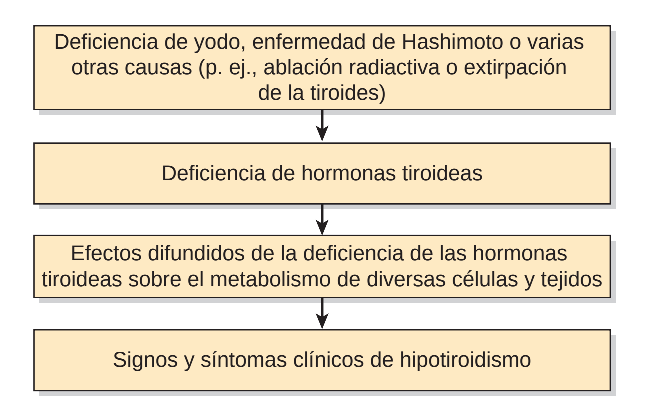


FIGURA 54-18 Esquema simplificado de la causa del hipotiroidismo primario.

lo que indica una contribución **genética**. En el presente caso, hubo antecedentes familiares puesto que una hermana de la madre de la paciente padeció "enfermedad tiroidea", y una hermana de la paciente tuvo anemia perniciosa, otra enfermedad autoinmunitaria.

Tiene importancia considerar el hipotiroidismo como un diagnóstico, porque el **tratamiento temprano** puede mejorar mucho la calidad de vida de un paciente.

En la figura 54-18 se proporciona un esquema simplificado de la causa del hipotiroidismo.

CASO 12: KWASHIORKOR, UN TIPO DE MALNUTRICIÓN PROTEÍNICO-ENERGÉTICA (PEM)

Antes de estudiar este caso, se recomienda al lector que consulte el material que se presenta en los capítulos 43 y 44 sobre nutrición. El capítulo 43 contiene información respecto a equilibrio de energía, kwashiorkor, marasmo y aminoácidos esenciales.

Causa

Deficiencia nutricional principalmente de proteína en el caso del kwashiorkor, pero por lo general acompañada de deficiencias de otros nutrientes. La deficiencia de ingreso de energía causa marasmo. Algunos pacientes tienen características tanto de kwashiorkor como de marasmo.

Interrogatorio y examen físico

Una niña africana de dos años de edad fue llevada por su madre a la sala ambulatoria del hospital local. La madre tenía cuatro hijos, el más pequeño de los cuales tenía tres meses de edad y aún recibía alimentación al seno materno. El padre se había fracturado una pierna en un accidente durante el año previo, y había sido incapaz de trabajar desde entonces. De este modo, el ingreso familiar era bajo, y no podían comprar leche y carne con regularidad. Su principal alimento de subsistencia era harina cocida, con contenido alto de carbohidratos y bajo de proteína, e incluso el aporte de ese alimento había sido escaso a últimas fechas. La madre declaró que los meses anteriores la hija había estado comiendo mal, y presentado diarrea intermitente; recientemente había presentado tos y fiebre, y se había tornado muy irritable, débil y apática.

En el examen se encontró que tenía peso insuficiente para su estatura, y que era pequeña para su edad. La temperatura fue de 40.5°C. La circunferencia a la mitad del brazo estuvo un poco por debajo de lo normal. La piel mostraba descamación, y el pelo estaba reseco, era frágil, y se desprendía con facilidad. El abdomen estaba distendido, y el hígado moderadamente agrandado. Fue evidente el edema periférico. Se auscultaron estertores sobre los lóbulos inferiores de ambos pulmones.

El médico de guardia diagnosticó kwashiorkor, diarrea, neumonía y posible bacteriemia.

Datos de laboratorio

Se obtuvieron muestras de sangre para análisis. Los resultados después se reportaron como: hemoglobina, 6.0 g/dl (normal para un niño de dos años de edad: 11 a 14 g/dl); proteína sérica total, 4.4 g/dl (normal: 6.0 a 8.0 g/dl), y albúmina, 2.2 g/dl (normal: 3.5 a 5.5 g/dl). Se obtuvieron muestras de heces y sangre para cultivo; más tarde se reportó un anaerobio gramnegativo en ambas. El recuento de neutrófilos estuvo alto (congruente con una neumonía bacteriana), y su recuento de linfocitos estuvo notoriamente deprimido. Las radiografías de tórax revelaron opacidades moteadas en los lóbulos inferiores de ambos pulmones, congruentes con bronconeumonía aguda bilateral.

Tratamiento

En muchos casos es mejor no tratar en el hospital a niños que tienen kwashiorkor leve a moderado, porque esto sólo aumenta la probabilidad de infección. Sin embargo, en vista de la fiebre, debilidad, somnolencia y edema intenso, se admitió a esta paciente. Se inició de inmediato **antibioticoterapia** apropiada, y administración de **solución salina con dextrosa por vía intravenosa**. Lamentablemente, su estado empeoró y falleció alrededor de 12 h después de la admisión. Los datos de la autopsia fueron compatibles con kwashiorkor y revelaron también hígado graso y bronconeumonía bilateral graves.

Discusión

La PEM es el trastorno nutricional más frecuente en muchas partes del mundo; hasta mil millones de personas sufren PEM de diversa gravedad. Se debe a ingestiones inadecuadas de proteína en la dieta (lo que causa kwashiorkor) o de energía (lo que provoca marasmo). Casi siempre se acompaña de deficiencias de otros nutrientes (p. ej., vitaminas, minerales, etc.). Los niños y los ancianos son en particular susceptibles, pero puede ocurrir a cualquier edad.

La PEM puede definirse como **primaria** (debida directamente a deficiencia de ingestión de proteína y de ingreso de energía), o **secundaria** (debida a necesidades aumentadas, absorción disminuida o pérdida aumentada, de nutrientes). Éste fue un caso de kwashiorkor primario.

Muchas de las características de la PEM primaria representan **adaptaciones** a las deficiencias de energía y proteína en la dieta. Por ejemplo, la actividad física disminuye ante ingestión deficiente de nutrientes. Las reservas de glucógeno en el músculo y el hígado sólo son capaces de proporcionar energía durante un tiempo breve (un día o dos), de modo que las reservas de grasa se movilizan para producir energía.

A la postre, cuando las reservas de grasa se agotan, se cataboliza la proteína (principalmente en músculos) para proporcionar aminoácidos y energía. Así, los pacientes con PEM muestran poca actividad, tienen reservas corporales de grasa disminuidas o nulas, y muestran emaciación muscular, dependiendo de la gravedad de la enfermedad.

La PEM se ha clasificado como **edematosa** (kwashiorkor) o **no edematosa** (marasmo). La causa precisa del edema en el kwashiorkor aún se encuentra en estudio. La hipoalbuminemia (debida a aporte deficiente de aminoácidos para sintetizar la proteína) probablemente es un factor contribuidor (cap. 50), aunque esto no se encuentra establecido. La permeabilidad vascular aumentada también puede ser importante. La deficiencia del aminoácido metionina, un precursor de la cisteína, también puede contribuir. La cisteína es uno de los tres aminoácidos presentes en el glutatión, el principal antioxidante del cuerpo. La declinación de las concentraciones de glutatión en los tejidos podría dar por resultado daño de diversas moléculas y tejidos por radicales libres (cap. 45) y quizá daño de membranas celulares, lo que aumentaría su permeabilidad.

Clásicamente, el **kwashiorkor** es un extremo del espectro de PEM, en el cual la característica esencial es la **deficiencia de proteína**, con ingreso relativamente adecuado de energía. El **marasmo** se encuentra en el otro extremo, y se debe a restricción intensa y prolongada no sólo de proteína sino de todos los **alimentos**. Sin embargo, muchos casos tienen características tanto de marasmo como de kwashiorkor, un estado llamado **kwashiorkor marásmico**; esta paciente mostró principalmente signos de kwashiorkor. Los **datos característicos del kwashiorkor** son hipoalbuminemia, piel frágil (p. ej., cicatrización inadecuada de heridas, úlceras), desprendimiento fácil del pelo, y edema (fig. 54-19). El kwashiorkor es la palabra que los miembros de la tribu ga de Ghana usan para describir "la enfermedad que el hijo mayor adquiere cuando nace el siguiente hijo". Aparece después del destete de la leche materna, y de exposi-

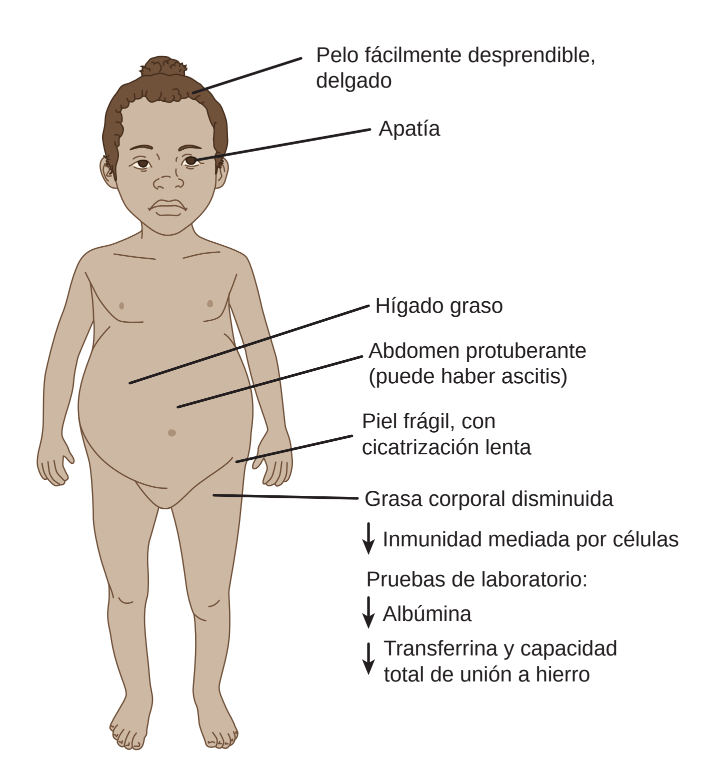


FIGURA 54-19 Algunos de los principales signos del kwashiorkor.

CUADRO 54-6 Algunas diferencias entre el kwashiorkor y el marasmo

	Kwashiorkor	Marasmo
Causa	Ingestión disminuida de proteína	Ingreso de energía disminuido
Inicio	Rápido (p. ej., semanas), a menudo relacionado con estrés, como infecciones	Gradual (meses a años)
Hipoalbuminemia	Presente, y puede ser grave	Leve si está presente
Emaciación muscular	Ausente o leve	Puede ser muy grave
Grasa corporal	Disminuida	Falta

Nota: Los pacientes con kwashiorkor marásmico muestran combinaciones variables de las características anteriores.

ción a una dieta con bajo contenido de proteína y alto de carbohidratos. A menudo se encuentra **hígado graso** en el kwashiorkor porque la deficiencia de proteína en la dieta deprime la síntesis de apolipoproteínas en el hígado, lo que da por resultado acumulación de triglicéridos. El mal estado de la piel y el pelo que se observa en el kwashiorkor se debe principalmente a deficiencia de proteína. La **hipoalbuminemia** es una característica frecuente. Si bien la deficiencia de proteína puede causar hipoalbuminemia, la inflamación crónica también puede contribuir al suprimir la síntesis de albúmina. Asimismo, la capacidad total de unión a hierro y las concentraciones de transferrina están deprimidas.

Las **hormonas** pueden ser importantes en la generación de PEM. Algunos creen que en el kwashiorkor la exposición a ingestión relativamente alta de carbohidrato mantiene las concentraciones de insulina altas y las de epinefrina y cortisol bajas, en contraposición con el marasmo. La combinación de insulina baja y cortisol alto favorece mucho el **catabolismo de músculo**; de este modo, la **emaciación muscular** es mayor en el marasmo que en el kwashiorkor. Además, debido a las concentraciones más bajas de epinefrina, en el kwashiorkor no se moviliza grasa al mismo grado. El **sistema inmunitario** está alterado en la PEM, en particular la función de células T. De este modo, los individuos son muy susceptibles a **infecciones** (p. ej., que causan diarrea), y las infecciones empeoran la situación al imponer una demanda metabólica más alta sobre el cuerpo (p. ej., por fiebre). En el cuadro 54-6 se resumen algunas diferencias entre el kwashiorkor y el marasmo.

La PEM es por completo **prevenible** mediante una dieta equilibrada que contenga cantidades adecuadas de los principales macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y minerales.

En la figura 54-20 se resumen algunos de los mecanismos involucrados en el kwashiorkor.

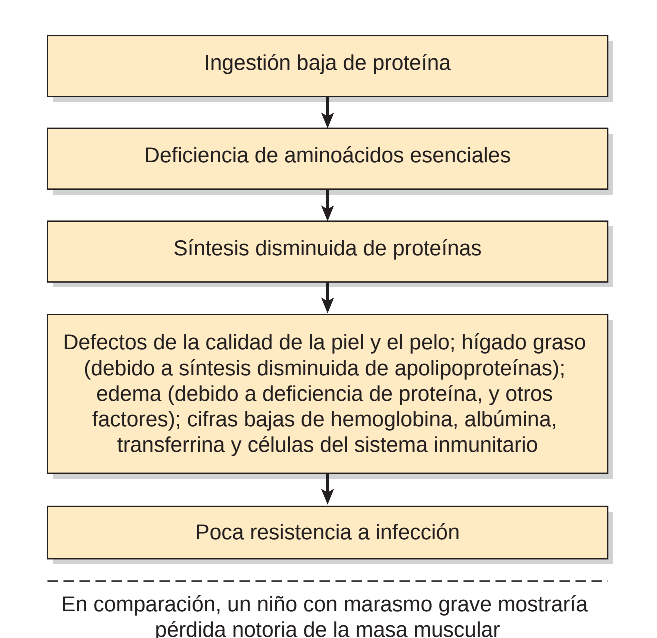


FIGURA 54-20 Resumen de algunos de los factores comprendidos en la causa del kwashiorkor.

CASO 13: INFARTO DE MIOCARDIO

Causa

Falta de oxígeno y diversos metabolitos (debido a bloqueo del flujo sanguíneo en una arteria coronaria hacia un área de miocardio). Factores genéticos y de otros tipos predisponen a esta situación.

Interrogatorio y examen físico

Un hombre de negocios de 46 años de edad fue admitido a la sala de urgencias de su hospital local, quejándose de dolor retrosternal intenso de 1 h de duración. Previamente se le había admitido al hospital una vez para tratamiento de un infarto de miocardio pequeño; pese a esto siguió fumando mucho. Se le había recomendado que consumiera una dieta principalmente vegetariana, restringiera su ingestión de sal, e ingresara a un programa de ejercicio, y se le prescribió un inhibidor de la HMG-CoA reductasa (su colesterol total y de LDL habían estado altos, y el de HDL, reducido), y una combinación de un diurético tiazídico y un inhibidor de la ECA (enzima convertidora de angiotensina) por hipertensión moderada. También estuvo tomando una aspirina (81 mg) al día. La presión arterial fue de 150/90 mm Hg (antes de este incidente había sido de 140/80 mm Hg; y probablemente estaba alta debido a estrés), el pulso fue de 60/min, y el sujeto estaba sudando con profusión. No hubo evidencia de insuficiencia cardiaca. Su padre había muerto a los 52 años de edad por un "ataque cardiaco", y uno de sus dos hermanos había sufrido un infarto de miocardio a los 49 años de edad. Debido al diagnóstico de admisión de probable infarto de miocardio, se le administró morfina para aliviar el dolor y la aprensión, y por su efecto dilatador coronario, y se le transfirió de inmediato a una unidad de cuidado cardiaco, donde se instituyó en seguida vigilancia electrocardiográfica continua.

Datos de laboratorio

El ECG inicial mostró elevación del segmento ST y otros cambios en ciertas derivaciones, indicativos de infarto transmural anterior agudo de ventrículo izquierdo. Se obtuvo sangre al principio y a intervalos regulares a partir de entonces para medición de la troponina T; en el momento de la admisión la concentración estuvo dentro de límites normales, pero había aumentado ocho veces hacia las 6 h después de la admisión.

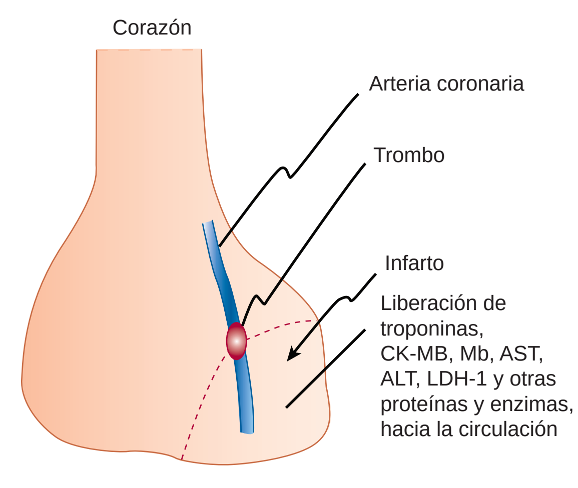


FIGURA 54-21 Representación esquemática de un trombo en una arteria coronaria que da por resultado liberación de diversas proteínas y enzimas hacia la circulación desde un área de infarto de miocardio. Diversas proteínas y enzimas se liberan a diferentes índices desde el tejido infartado, y muestran distintas vidas medias en la circulación. En la actualidad, las troponinas se usan ampliamente para ayudar en el diagnóstico de infarto de miocardio, pero las otras enzimas mostradas aún se usan en grados variables, y se usaron más ampliamente en el pasado. (Mb, mioglobina; CK-MB, la isozima MB de la creatina cinasa; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; LDH-1, la isozima de la lactato deshidrogenasa en el músculo cardiaco.)

En la figura 54-21 se indican algunas proteínas y enzimas que se han usado en el diagnóstico de un infarto de miocardio. En el capítulo 7 se comenta el uso de enzimas y proteínas en el diagnóstico de MI y otras enfermedades. Las concentraciones de colesterol total y la proporción de colesterol de LDL/HDL estuvieron dentro de límites normales (< 5.17 mmol/L y 4:1, respectivamente), y los triacilgliceroles fueron de 1.50 mmol/L (normal: < 2.26 mmol/L).

Tratamiento

El cardiólogo a cargo, tras revisar todos los aspectos del caso, decidió administrar activador del plasminógeno hístico (t-PA) por vía intravenosa debido al diagnóstico de infarto de miocardio transmural anterior. Habían transcurrido alrededor de 1.5 horas desde el inicio de los síntomas. El dolor retrosternal empezó a desaparecer luego de 12 h, y el paciente se sintió cada vez más cómodo. Se le dio de alta del hospital siete días después bajo el cuidado de su médico familiar. Recibió instrucciones de continuar con su medicamento, asistir a un programa de rehabilitación cardiaca y dejar de fumar.

Discusión

Un infarto de miocardio por lo general se produce por un trombo oclusivo que se ubica en estrecha proximidad a una placa aterosclerótica inestable que a menudo se ha roto recientemente. La rotura de la placa contribuye a generar el trombo. Por lo general el diagnóstico puede efectuarse a partir de la historia clínica, los resultados del electrocardiograma, y mediciones seriadas de un biomarcador cardiaco, como la **troponina T**. La medición de esta proteína ha remplazado a la de la CK-MB en muchos hospitales (cap. 7).

Los objetivos principales del tratamiento son prevenir la muerte por arritmias cardiacas mediante administración de fármacos apropiados, así como limitar el tamaño del infarto. En este caso, se decidió limitar el tamaño del infarto mediante la **administración de t-PA**, que puede disolver el trombo o limitar el crecimiento del mismo (cap. 51) si se administra hasta 12 h después del inicio de los síntomas, aunque de preferencia antes. Una alternativa habría sido la **intervención coronaria percutánea (PCI)**, que consta de angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA), con o sin inserción de una endoprótesis.

La **aterosclerosis**, la **trombosis coronaria** y el **infarto de miocardio** se describen aquí muy brevemente; el lector encontrará descripciones detalladas en un libro de patología. La aterosclerosis consta de placas en la íntima de arterias de calibre mediano y grande. Se cree que la **disfunción endotelial** tiene importancia en la génesis de la aterosclerosis. Pueden depositarse plaquetas y fibrina en la cara luminal de una arteria, y células de músculo liso derivadas de manera monoclonal presentes en la capa media de la arteria pueden crecer hacia la lesión de la íntima, atraídas por factores de crecimiento liberados por macrófagos y plaquetas (p. ej., factor de crecimiento derivado de plaquetas). Después se acumulan proteínas plasmáticas, glucosaminoglucanos, colágeno y calcio en una lesión llamada una **estría adiposa**. La presencia de **LDL oxidada** en lesiones ateroscleróticas parece ser en particular importante, por cuanto estimula el reclutamiento de macrófagos (células inflamatorias) y la liberación de factores de crecimiento. Así, se cree que la **inflamación** es un factor clave en la aterosclerosis, según se refleja por la acumulación de macrófagos y linfocitos. La concentración plasmática alta de **proteína C reactiva** (CRP) (cap. 50) también es un reflejo de inflamación crónica.

A medida que los procesos anteriores progresan, la estría adiposa evoluciona hacia una **placa en la íntima**. Puede haber inflamación y hemorragia hacia la placa, lo que lleva a rotura de su superficie y exposición de sus constituyentes subyacentes a la sangre. Las plaquetas se adherirán al colágeno expuesto, y se inicia un **trombo** (cap. 51).

Los **factores de riesgo** para aterosclerosis son: edad, antecedentes familiares, sexo masculino, concentraciones altas de LDL y bajas de HDL, hipertensión, diabetes mellitus y tabaquismo. Este paciente tuvo concentraciones altas de colesterol total y de LDL, y deprimidas de HDL, antes de iniciar el tratamiento con dieta y fármacos.

Si el trombo en una arteria coronaria ocluye alrededor de 90% de la pared del vaso, el flujo sanguíneo a través del vaso afectado puede cesar **(isquemia total)**, y el aporte de oxígeno del área de miocardio afectada quedará alterado con rapidez. El metabolismo normal del miocardio es **aeróbico**; casi todo su ATP se deriva de la fosforilación oxidativa. La anoxia consecutiva a isquemia total origina un cambio hacia **glucólisis anaeróbica**, que sólo genera alrededor de una décima parte del ATP producido mediante fosforilación oxidativa. No sólo ocurre este cambio del metabolismo, sino que también se reduce mucho el flujo de sustratos hacia el miocardio por medio de la sangre, y la eliminación de productos metabólicos desde el mismo. Esta acumulación de metabolitos intracelulares aumenta la presión oncótica intracelular, lo que da por resultado tumefacción celular; ello afecta la permeabilidad de la membrana plasmática. De este modo, el miocardio afectado muestra agotamiento de ATP, acumulación de ácido láctico, aparición de acidosis grave, y notoria reducción de la fuerza contráctil. En muchos laboratorios se están investigando los **cambios metabólicos precisos**

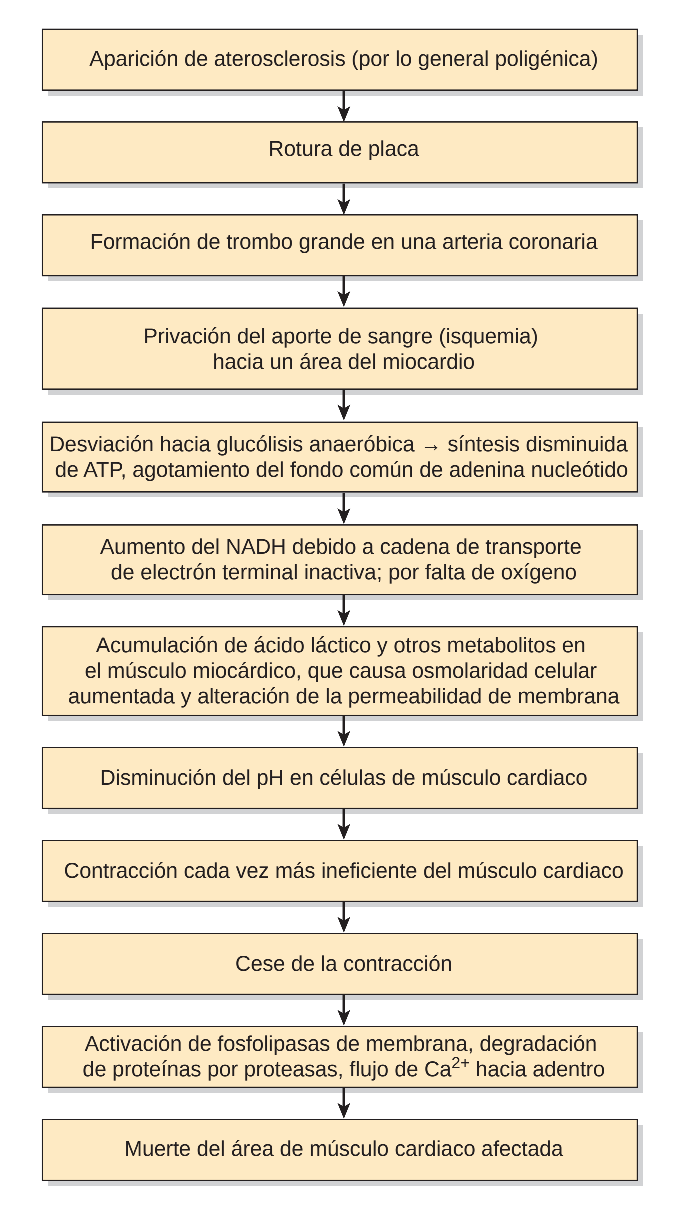


FIGURA 54-22 Resumen de los mecanismos involucrados en la causa de un infarto agudo de miocardio. Las flechas no en todos los casos implican una relación causal estricta.

que comprometen a una célula a morir; ésta es una muy importante área de investigación. Los cambios en estudio incluyen agotamiento de ATP, activación de fosfolipasas intracelulares (que da por resultado daño de las membranas celulares), activación de proteasas, y acumulación de Ca^{2+} intracelular.

En la figura 54-22 se resumen algunos de los mecanismos involucrados en la causa de un infarto de miocardio agudo.

CASO 14: OBESIDAD

Antes de estudiar esta historia de caso se recomienda al lector que consulte el material sobre triacilgliceroles y tejido adiposo en el capítulo 25, y el material respecto a nutrición en los capítulos 43 y 44.

Causa

Muchos factores contribuyen a la obesidad (genéticos, ambientales, culturales, etc.). Sin embargo, el tema fundamental es que el ingreso de energía excede el gasto de energía, lo que da por resultado almacenamiento de triacilgliceroles en el tejido adiposo.

Interrogatorio, examen físico y datos de laboratorio

Una mujer de 30 años de edad visitó a su médico familiar quejándose de tener sobrepeso notorio. Estaba casada, pero no tenía hijos. También se quejó de que sus periodos menstruales eran irregulares. No proporcionó antecedentes personales patológicos importantes, y no tomaba fármacos. Declaró que siempre había tendido al sobrepeso, y que su madre y sus dos hermanas también presentaban peso en exceso. Tenía un empleo sedentario en una oficina y no hacia ejercicio con regularidad. Además, dijo que tenía "un apetito saludable", y tanto ella como su esposo (quien también tenía sobrepeso) a menudo consumían diversas comidas rápidas. Muchos individuos obesos niegan que comen en exceso y es difícil medir con precisión el consumo de alimentos en el ejercicio médico ordinario.

El examen reveló sobrepeso obvio (91 kg, 200 libras) para su estatura (163 cm, 5′4"). El índice de masa corporal (BMI = peso en kg/estatura en m^2) se calculó a partir de un cuadro, y se encontró que era de ~ 34. Un BMI de 25 a 29.9 kg/m^2 indica sobrepeso, y uno de > 30 kg/m^2 indica obesidad. Otros indicadores clínicos de obesidad son la proporción entre cintura y cadera, y el grosor del pliegue cutáneo. La acumulación de grasa alrededor del abdomen confiere una forma de manzana, mientras que la que ocurre alrededor de las nalgas confiere una forma de pera. La primera es más seria, puesto que en el momento de la lipólisis la grasa abdominal (visceral) puede liberar ácidos grasos hacia la vena porta, lo que lleva al depósito de grasa en el hígado y los músculos. También se dispone de instrumentos más precisos para medir la obesidad (p. ej., análisis de bioimpedancia bioeléctrica y medición del peso bajo agua). La presión arterial fue de 140/95, y el colesterol total, de 6.1 mmol/L (limítrofe alto). El examen general de orina resultó negativo. La glucosa sanguínea en ayunas fue de 6.6 mmol/L (limítrofe alto).

Tratamiento

El médico le informó que tenía obesidad, pero no obesidad mórbida (BMI > 40). Los resultados de laboratorio indicaron concentraciones de colesterol y glucosa en sangre, al igual que presión arterial, limítrofes altas. El médico le dijo que el aumento adicional de estos valores la predispondría a **enfermedad del corazón**, **diabetes mellitus**, **hipertensión** y el **síndrome metabólico**. Este último se caracteriza por grasa abdominal excesiva, glucosa sanguínea alta (resistencia a la insulina), lípidos sanguíneos anormales (aumento de LDL y decremento de HDL), y presión arterial alta. También señaló varias **otras complicaciones** a las cuales la obesidad la predisponía (p. ej., problemas de la reproducción, como periodos menstruales irregulares; enfermedad de la vesícula biliar; trombosis venosa profunda; apnea del sueño, etc.). El médico indicó a la paciente que el tratamiento de la obesidad no era fácil y que ella tendría que efectuar un **cambio permanente del estilo de vida** si deseaba que la terapia tuviera éxito y que la pérdida de peso se mantuviera. Resu-

mió los **principales métodos para el tratamiento** de la obesidad: 1) dieta; 2) ejercicio; 3) terapia conductual; 4) fármacos (p. ej., para suprimir el apetito de manera central, o que actúan como un inhibidor de la actividad de lipasa en el intestino, lo que reduce así la absorción de ácidos grasos), y 5) intervención quirúrgica (p. ej., colocación laparoscópica de banda gástrica ajustable, y otros procedimientos) en casos muy graves.

El médico señaló que creía que en el caso de ella podían hacerse progresos satisfactorios, al menos al principio, por medio del uso de las primeras dos líneas de terapia. El médico dijo a la paciente que él rara vez recomendaba fármacos para el tratamiento de la obesidad, y que la operación por lo general se restringía a personas con obesidad mórbida (BMI > 40), que no habían mostrado respuesta a otros métodos. También le recomendó que hiciera que su esposo participara, debido a su problema de peso y porque sería mutuamente beneficioso si él también estuviera en un programa de reducción del peso.

Respecto a la **dieta**, el médico (que tenía un especial interés por implementar nutrición sana en su consultorio) comentó las características generales de una dieta idónea, y las ventajas del **ejercicio diario regular**. En el cuadro 54-7 se listan las recomendaciones específicas en cuanto a la dieta que dio el médico.

La paciente después ingresó a una organización para pérdida de peso, y encontró que recalcó cambios de la conducta (p. ej., crear hábitos de alimentación sensibles, gratificaciones por buenos resultados, orientación de grupo), y proporcionó también apoyo y estímulo por parte de los otros miembros. La paciente estaba muy entusiasmada para perder peso y durante el siguiente año continuó de manera estrecha con las diversas recomendaciones que se le dieron. Perdió 15.4 kg (34 libras) durante ese periodo. Se sintió mucho mejor y declaró también que sus periodos menstruales se habían regularizado y que esperaba quedar embarazada. Además, la presión arterial y las concentraciones de colesterol total y glucosa sanguínea disminuyeron a valores normales. La paciente estaba absolutamente decidida a continuar con el programa de pérdida de peso, al igual que su esposo. Sólo lamentaba no haber perdido más peso. Muchos pacientes en tratamiento de obesidad después de un tiempo recuperarán el peso perdido, por diversas razones.

CUADRO 54-7 Resumen de las recomendaciones en cuanto a la dieta para pérdida de peso

Adquirir información respecto a nutrición general y calorías, y estudiar las etiquetas de los alimentos.
Empezar una dieta hipocalórica (alrededor de 1 200 calorías/día), que contenga cantidades apropiadas de carbohidratos, proteínas y grasas.
Comer comidas más frecuentes, de menor tamaño.
Reducir la ingestión de azúcares simples y carbohidratos refinados, y aumentar la de carbohidratos complejos (cereales, etc.) y alimentos con índice glucémico bajo.
Reducir la ingestión de carne roja y procesada.
Reducir la ingestión de grasas saturadas, y aumentar la de grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas, y de ácidos grasos omega-3.
Reducir la ingestión de sal.
Aumentar el consumo de frutas, verduras y legumbres frescas; frutos secos, y alimentos lácteos con bajo contenido de grasa.
Reducir de manera notoria la ingestión de comidas rápidas y de refrescos ricos en calorías.
Evitar cualquiera de las dietas que constituyen modas pasajeras.
Beber agua de buena calidad.
Tomar complementos de vitaminas y minerales.
Consultar a un dietista para que proporcione detalles adicionales sobre dieta y nutrición.
Ingresar en una organización que se especialice en orientar a las personas sobre pérdida de peso y que tenga un programa de ejercicio diario.

Discusión

La obesidad es un estado muy prevaleciente, que está en aumento. Casi una tercera parte de los adultos en EUA es obesa y cada vez más niños son obesos, lo cual es alarmante. Algunos hablan de una epidemia de obesidad en la sociedad occidental. El análisis minucioso de todos los factores que contribuyen a esto es complejo, pero tienen importancia el **ingreso aumentado** y el **gasto de energía disminuido**. La ingestión aumentada de comidas rápidas y de refrescos con alto contenido de calorías, y ver la televisión demasiado tiempo, son contribuidores importantes.

Si bien se ha dado gran difusión a los peligros de la obesidad, despierta interés que algunos individuos obesos consideran que los profesionales de la salud los están estableciendo como objetivo de manera injusta, y que los peligros de la obesidad se han recalcado en exceso. Puede debatirse que es mejor estar un poco obeso y en buena forma física, que tener peso normal y estar en mala forma física. Además, ciertos individuos afirman que disfrutan ser obesos.

Si bien la obesidad en sí es relativamente fácil de reconocer y de definir (p. ej., puede usarse de manera un poco arbitraria un BMI > 30), no es tan fácil definir los factores específicos que contribuyen a casos individuales.

En el presente caso quedan de manifiesto **varios factores contribuidores**. Por ejemplo, la paciente llevaba un estilo de vida sedentario, solía consumir comidas rápidas, no hacía ejercicio con regularidad, etc. Sin embargo, ¿cuál era su ingestión calórica exacta? ¿Cuál era su gasto de energía preciso? ¿Los diversos mecanismos que controlan el apetito (fig. 54-23) estaban funcionando de manera apropiada? ¿Qué papel tuvieron los factores genéticos en su obesidad, si es que la tuvieron (ella manifestó un antecedente familiar de obesidad)? Estos factores no son fáciles de cuantificar para un médico en su consultorio.

Debido a su importancia médica, se está efectuando mucha investigación en el campo de la obesidad. Esto abarca investigación básica sobre el adipocito y los mecanismos de emisión de señales, hasta estudios epidemiológicos en diversas poblaciones y su susceptibilidad a obesidad. Aquí sólo se abordarán brevemente tres áreas: 1) regulación del apetito e ingestión de alimentos; 2) algunos aspectos genéticos, y 3) algunos aspectos del gasto de energía.

En la figura 54-23 se resume un conjunto de conocimientos respecto a la **regulación del apetito**. El **hipotálamo** desempeña una función clave en la regulación central del apetito. Se muestran factores que aumentan el apetito, y que lo suprimen. Participan factores psicológicos, neurales y culturales. Se indican diversos péptidos que afectan áreas específicas del hipotálamo. Además, las concentraciones de metabolitos circulantes (p. ej., glucosa) y de hormonas afectan los centros hipotalámicos. Respecto a las hormonas, por ejem-

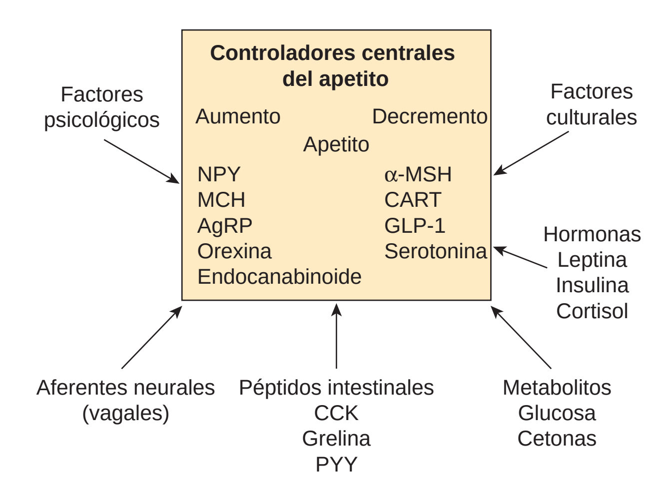


FIGURA 54-23 Factores que regulan el apetito por medio de efectos sobre circuitos neurales centrales. Se listan los factores que aumentan o disminuyen el apetito. (NPY, neuropéptido Y; MCH, hormona concentradora de melanina; Ag RP, péptido relacionado con Agouti; MSH, hormona estimulante de los melanocitos; CART, transcripción relacionada con cocaína y con anfetamina; GLP-1, péptido relacionado con glucagon-1; CCK, colecistocinina; PYY, péptido YY.) Se recomienda al lector que consulte en un libro de fisiología las descripciones de las acciones de estas diversas moléculas. (Reproducida, con autorización, de Harrison's *Principles of Internal Medicine*, 17th ed, Fauci AS *et al.* [eds.], McGraw-Hill, 2008.)

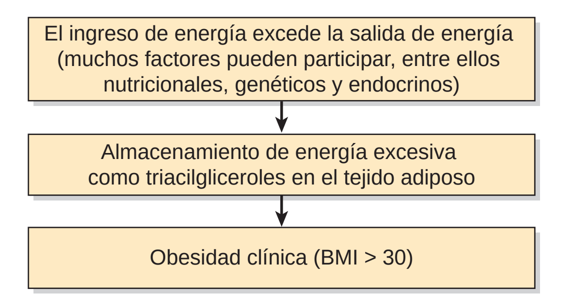


FIGURA 54-24 Esquema simplificado de la causa de la obesidad.

plo, los individuos con síndrome de Cushing (concentraciones altas de cortisol o de hormonas relacionadas) son obesos y muestran una distribución característica de la grasa corporal. Se ha enfocado particular interés en la **leptina**, un polipéptido liberado a partir de adipocitos, que actúa principalmente en el hipotálamo. Las concentraciones altas de leptina disminuyen la ingestión de alimentos y aumentan el gasto de energía. La leptina se descubrió por medio de estudios de ratones que tenían obesidad dependiente de mecanismos genéticos (ob/ob). En seres humanos, la leptina es el producto del gen *OB*. Las concentraciones de leptina están altas en la mayoría de los seres humanos obesos, lo que sugiere que de alguna manera pueden ser resistentes a su acción.

Se han reconocido **influencias genéticas** sobre la obesidad. Gemelos idénticos tienden a mostrar peso corporal similar; hay casos ocasionales de mutaciones en los genes que codifican para leptina y el receptor de leptina. Se han descrito casos de individuos obesos que tienen mutaciones del gen que codifica para pro-opiomelanocortina (POMC), que se procesa para formar hormona estimulante de los melanocitos α (α-MSH), un potente supresor del apetito. Además, se han reportado mutaciones del gen que codifica para el receptor tipo 4 para α-MSH, y de los genes que codifican para dos enzimas proteolíticas que participan en la conversión de POMC en α-MSH.

Es característico que los niños con síndrome de Prader-Willi (debido a deleción de una parte del cromosoma 15, y que se caracteriza por consumo excesivo de alimentos, entre otros signos) y con síndrome de Laurence-Moon-Biedl (un trastorno genético autosómico recesivo) sean obesos. Cabe recalcar que la mayoría de los sujetos obesos al parecer no tiene mutaciones en los genes antes mencionados. Sin embargo, es probable que múltiples factores genéticos sutiles (p. ej., polimorfismos de nucleótido único, SNP) influyan sobre la obesidad.

Respecto al **gasto de energía**, al igual que la ingestión de alimentos, es difícil de medir con precisión excepto en instalaciones de investigación. En el capítulo 44 se describe un método complejo para medir el gasto de energía usando agua doblemente marcada, al igual que los conceptos de índice metabólico basal (BMR) y otros factores involucrados en el gasto diario de energía. Parece ser que la mayoría de los individuos obesos tiene un gasto de energía más alto que las personas con peso normal, porque su masa corporal magra está aumentada. Otro tema importante es si los individuos obesos en realidad comen más que los no obesos. Parece probable que lo hacen, aunque muchos lo niegan. En el presente caso, parece probable, con base en el interrogatorio, que la paciente comía en exceso.

Un tema que ha quedado sujeto a debate es la posible participación de **variaciones de la termogénesis inducida por la dieta** (cap. 25) en la contribución a la obesidad. El tejido adiposo pardo contiene una proteína mitocondrial conocida como **termogenina** (proteína desacopladora-1) que disipa energía como calor. Si bien el tejido adiposo pardo no es un componente prominente de adultos (al contrario de lo que sucede con los recién nacidos), está presente. También parece ser que la cantidad del mismo está disminuida en al menos ciertos individuos obesos, lo que podría significar que disipan menos energía como calor que los individuos no obesos, y que tienen más disponible para otros propósitos.

También se sabe que existen otras dos proteínas desacopladoras en tejidos de ser humano, aunque su contribución general a la termogénesis inducida por la dieta no se encuentra establecida con claridad. Así, muchos factores pueden contribuir a la obesidad y no es fácil evaluar su contribución en la mayor parte de los casos que se observan en la práctica clínica. En la actualidad, el tratamiento razonable de la obesidad consta principalmente de decremento de la ingestión de alimento, consumo de una dieta sana, aumento la actividad física, y apoyo y estímulo apropiados.

En la figura 54-24 se resumen algunos factores importantes involucrados en la causa de la obesidad.

CASO 15: OSTEOPOROSIS PRIMARIA (POSMENOPÁUSICA)

Antes de estudiar esta historia de caso se recomienda al lector que lea detenidamente el material del capítulo 48 sobre hueso y el material del capítulo 44 sobre vitamina D.

Causa

La osteoporosis es la pérdida de masa ósea con preservación de la proporción normal entre matriz orgánica (en su mayor parte proteínas) y mineral. Diversos factores (endocrinos, nutricionales, falta de actividad física, etc.) contribuyen a su aparición. En el tipo de osteoporosis posmenopáusica que se aborda aquí, el principal factor es la deficiencia de estrógeno.

Interrogatorio, examen físico e investigaciones

Una mujer de 64 años de edad acudió a la sala de urgencias luego de tropezar en su jardín y al parecer haber caído más bien con suavidad sobre el antebrazo derecho. Sin embargo, ella sospechaba que se había fracturado un hueso en el brazo, debido al dolor y la hinchazón justo por arriba de la articulación de la muñeca derecha. Las radiografías mostraron una fractura desplazada del extremo distal del radio. El radio también mostró disminución moderada de la radiodensidad, sugestiva de osteoporosis. Se redujo la fractura, se aplicó un enyesado apropiado, y se indicó a la paciente que acudiera con su médico familiar dos semanas más tarde. El médico de la sala de urgencias dio a la paciente una nota para que se la entregara a su propio médico, en la que mencionó que, debido a la suavidad de la caída, la fractura resultante, y la radiodensidad disminuida en el radio, sospechaba que la paciente podría tener osteoporosis. La mujer acudió con su médico familiar dos semanas más tarde. La paciente tenía cuatro hijos adultos; el último periodo menstrual había ocurrido alrededor de cinco años antes, y sólo había asistido con su médico de manera muy irregular con los años por achaques menores ocasionales. La mujer no estaba recibiendo medicamentos, no tomaba complementos vitamínicos ni minerales, y nunca había recibido tratamiento hormonal para la menopausia. Comía muy pocas frutas y verduras, y en general consumía una dieta con alto contenido de carbohidratos junto con cantidades liberales de alimentos fritos. Fumaba una cajetilla de cigarrillos al día y tomaba varios tragos de vodka cada tarde; además, rara vez hacía ejercicio. Se quejó de dolor lumbar crónico, pero por lo demás el interrogatorio no reveló datos importantes. En vista de la fractura y de la sugerencia de osteoporosis, su médico familiar solicitó absorciometría radiográfica de energía doble (DEXA) de las áreas de la parte lumbar de la columna vertebral y de la cadera para evaluar la densidad ósea. También solicitó radiografías de la parte baja de la columna vertebral debido al antecedente de dolor lumbar. Además, solicitó cuantificaciones de Ca, P, fosfatasa alcalina, 25-hidroxivitamina D y hormona paratiroidea séricos, y examen general de orina completo (incluso calcio en orina de 24 h) para verificar la presencia de alguna otra enfermedad ósea (p. ej., debido a deficiencia de vitamina D, hiperparatiroidismo o mieloma múltiple). Los resultados de la DEXA mostraron una notoria reducción (más de tres desviaciones estándar; más de 2.5 es diagnóstica de osteoporosis) respecto al valor promedio en mujeres de 25 años de edad de su raza, compatible con osteoporosis intensa. Las radiografías de la parte baja de la columna vertebral mostraron radiodensidad disminuida, mas no fracturas. Los resultados de los análisis de sangre y orina estuvieron dentro de límites normales, lo que sugirió que no tenía otro trastorno óseo serio.

Cuando ocurre resorción ósea hay producción aumentada de **productos de enlace cruzado de colágeno**, entre ellos se incluyen N-telopéptido, desoxipiridinolina y telopéptido C. Asimismo, en algunos casos de osteoporosis ocurre **formación aumentada de hueso**; la fosfatasa alcalina ósea y la osteocalcina son marcadores de esto. Estos diversos marcadores no son por sí mismos diagnósticos de osteoporosis, pero pueden medirse en el suero o la orina como **indicadores de la respuesta a la terapia**. Por ejemplo, un decremento de 30% de estos marcadores sugeriría terapia exitosa. No se midieron en este caso y, de hecho, no se miden en muchos laboratorios clínicos.

Tratamiento

El interrogatorio, así como los resultados de la DEXA y de los otros análisis, fueron congruentes con un diagnóstico de osteoporosis relativamente intensa. Se recomendó a la paciente que empezara de inmediato un programa de ejercicio en un gimnasio, al principio con la supervisión de un entrenador personal. También se le remitió con una dietista para que la dirigiera en el cambio de los hábitos respecto a la dieta; las recomendaciones incluyeron consumo diario y regular de raciones de frutas y verduras frescas, y consumo de una dieta más equilibrada (p. ej., reducir los alimentos feculentos y fritos). Se le recomendó que dejara de fumar y que redujera su consumo de alcohol, puesto que ambos pueden contribuir a la osteoporosis. También se inició la administración de dosis apropiadas de citrato de calcio y vitamina D. Además de lo anterior, el médico le recomendó que iniciara tratamiento con un bisfosfonato (p. ej., alendronato o risedronato), y le dio instrucciones detalladas acerca de cómo tomarlo. Estos dos medicamentos, bisfosfonatos que contienen N, son captados por los osteoclastos, e inhiben la formación de farnesil difosfato. Esto, a su vez, inhibe la **prenilación de ciertas proteínas** (fig. 26-2) y su fijación a la membrana plasmática, lo que afecta de manera negativa la actividad de los osteoclastos y, así, inhibe la resorción ósea. Otros fármacos que pueden usarse en el tratamiento de la osteoporosis en casos seleccionados son calcitonina de salmón, estrógeno, moduladores selectivos de estrógeno (p. ej., raloxifeno), y hormona paratiroidea. En el pasado se prescribía ampliamente estrógeno durante la menopausia para reducir la osteoporosis, y parecía ser relativamente eficaz. Sin embargo, el *Women's Health Initiative Study* indicó que los riesgos de la terapia con estrógeno superaban los beneficios en esta situación.

Se dio seguimiento a la paciente durante los siguientes años. Perdió una cantidad considerable de peso, y mantuvo su programa de ejercicio. En general, se sintió mucho más sana que en los 20 años previos. La fractura se consolidó de manera satisfactoria, no hubo pérdida adicional de masa ósea, pero no se restituyó la masa ósea normal. Se le dio orientación respecto a cómo tomar precauciones para evitar caídas, y se le recomendó que usara almohadillas para las caderas.

Discusión

La osteoporosis puede definirse como **reducción de la masa o la densidad ósea**. A menudo se detecta por vez primera después de una fractura, puesto que la pérdida de tejido óseo predispone a fracturas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha sugerido que existe osteoporosis cuando la **densidad ósea disminuye 2.5 desviaciones estándar o más por debajo de la media para adultos jóvenes sanos de la misma raza y género**. En EUA, alrededor de ocho

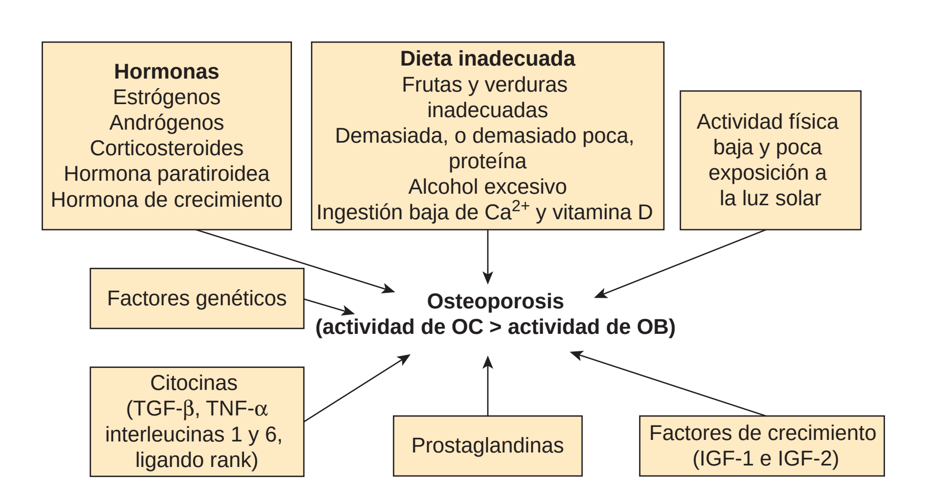


FIGURA 54-25 Esquema simplificado de diversos factores involucrados en la causa de la osteoporosis. (OC, osteoclástica, OB, osteoblástica, IGF-1 e IGF-2, factores de crecimiento parecidos a la insulina 1 y 2; TGF-β, factor de crecimiento transformante β; TNF-α, factor de necrosis tumoral α.) Las hormonas listadas tienen diversos efectos sobre el hueso. El IGF-1 e IGF-2 tienen efectos anabólicos sobre el hueso, pero también pueden estimular el recambio de hueso. El ligando RANK es una citocina que participa en la comunicación entre osteoblastos y osteoclastos; cuando interactúa con osteoclastos, aumenta la actividad de los mismos. Las otras citocinas son sintetizadas por los osteoblastos. Su síntesis aumenta o disminuye por la deficiencia de estrógeno, con el efecto general de extender el lapso de vida de los osteoclastos (al inhibir la apoptosis).

millones de mujeres y dos millones de varones padecen osteoporosis, y muchos otros tienen riesgo de presentarla.

Dos términos relacionados con osteoporosis son osteopenia y osteomalacia. La **osteopenia** es masa ósea disminuida, y abarca tanto osteoporosis como osteomalacia. En la **osteoporosis**, la masa ósea disminuye debido a decremento de la formación de hueso y aumento de la resorción, pero se preserva una proporción normal entre el mineral óseo (hidroxiapatita) y matriz ósea (en su mayor parte colágeno tipo 1). La **osteomalacia** también es un ejemplo de osteopenia, pero en ella hay mineralización disminuida; su causa más frecuente es deficiencia de vitamina D.

La osteoporosis **primaria** puede dividirse en tres tipos: **idiopática** (rara; ocurre en niños y en adultos jóvenes), **posmenopáusica** e **involucional** (en ancianos). Este caso es un ejemplo de **osteoporosis posmenopáusica**, y la declinación de las concentraciones de estrógeno es un factor importante en su causa. Este tipo también puede ocurrir en varones debido a una declinación de la testosterona sérica, que actúa para aumentar la actividad osteoclástica. La osteoporosis **involucional** ocurre en individuos de edad avanzada, y se debe a la declinación del número de osteoblastos con la edad. Las osteoporosis posmenopáusica e involucional pueden coexistir.

La osteoporosis **secundaria** es relativamente rara, y se debe a diversas enfermedades o estados (p. ej., enfermedad renal crónica, diversos fármacos [en especial corticosteroides], varios trastornos endocrinos, síndrome de malabsorción, etc.).

Las alteraciones de las cifras de diversos factores (hormonas, citocinas, nutricionales) dan por resultado aumento de la actividad osteoclástica sobre la actividad osteoblástica. En la osteoporosis posmenopáusica, la pérdida de estrógeno es crucial.

↓

Resorción de hueso con pérdida de matriz (principalmente colágeno tipo I, pero también otras proteínas como osteocalcina) con preservación de la proporción entre matriz y mineral (hidroxiapatita).

↓

Fragilidad de los huesos, lo que suele originar fracturas (las fracturas de cadera figuran entre las más serias).

FIGURA 54-26 Esquema simplificado de algunos factores importantes en la causa de la osteoporosis.

Muchos factores participan en la causa de la osteoporosis (fig. 54-25). Un entendimiento a profundidad de ellos requiere un conocimiento del **modelado óseo**, diversas **citocinas**, de las acciones de **diferentes hormonas**, y de distintos **factores nutricionales** y **genéticos**, entre otras consideraciones. (Las citocinas son un grupo heterogéneo de proteínas liberadas por diversas células, y que tienen efectos autocrinos o paracrinos.) Aquí sólo se indica la complejidad de un entendimiento completo de la osteoporosis al mencionar brevemente los principales participantes. El aspecto fundamental es que la osteoporosis ocurre cuando la **resorción ósea** (actividad osteoclástica [OC]) **excede la formación ósea** (actividad osteoblástica [OB]). Respecto a la osteoporosis posmenopáusica en particular, una consideración importante es que la **pérdida de estrógeno** parece aumentar la secreción de diversas citocinas que llevan a reclutamiento de osteoclastos. Asimismo, la pérdida de estrógeno disminuye la secreción de algunas otras citocinas que promueven la actividad osteoblástica. Así, el efecto general es un desequilibrio entre los osteoclastos y los osteoblastos, a favor de los primeros.

La figura 54-26 es una representación esquemática simplificada de la causa de la osteoporosis.

CASO 16: XERODERMA PIGMENTOSO (XP) (PIEL PIGMENTADA RESECA)

Antes de leer este caso el lector debe consultar el material que aparece en el capítulo 35 sobre reparación del DNA y XP.

Causa

Genética (una mutación en un gen que dirige las síntesis de una enzima de reparación de DNA en la vía de reparación por escisión de nucleótido) y física (exposición a radiación ultravioleta [UV]).

Interrogatorio y examen físico

Un niño de ocho años de edad, hijo único, fue llevado a una clínica de dermatología con un tumor en la piel de la mejilla derecha. Siempre se había evitado que se expusiera a la luz solar porque generaba la formación de vesículas en la piel. La piel tuvo áreas dispersas de hiperpigmentación, y otras áreas tenían aspecto de atrofia leve. No

hubo antecedente familiar de un trastorno similar. Debido a la presencia de un tumor cutáneo a una edad tan temprana, el antecedente de evitación de la luz solar, y las otras lesiones más leves en la piel, el dermatólogo hizo un diagnóstico provisional de XP.

Datos de laboratorio

El examen histológico del tumor extirpado mostró que era un **carcinoma de células escamosas** (un tipo frecuente de cáncer cutáneo en personas de edad avanzada, pero muy raro en un niño de esta edad). Se extirpó un pequeño fragmento de piel para **preparar fibroblastos** para hacerlos crecer en cultivo de tejido. Un laboratorio de investigación en el hospital se especializó en biología de la radiación y se preparó para medir la cantidad de **dímeros de timina** (véase más adelante) formados después de la exposición a luz UV. Los fibroblastos del paciente y los fibroblastos control se expusieron a luz UV, y se obtuvieron muestras de células a intervalos de 8 h durante un total de 32 h después de la irradiación. Se prepararon extractos de DNA, y se cuantificó el número de dímeros que permanecieron en cada punto en el tiempo indicado. Mientras que a las 32 h sólo 24% de los dímeros formados persistió en el DNA extraído de las células normales, en el extracto de las células del paciente se encontró aproximadamente 95%. Esto mostró que las lesiones inducidas por UV no se habían reparado y, así, confirmó el diagnóstico de XP.

Discusión

La XP es una rara enfermedad **autosómica recesiva** en la cual los mecanismos para reparación del DNA después de daño por radiación UV son defectuosos. Esto surge debido a mutaciones en los genes que codifican para componentes de la **vía de escisión de nucleótido** de la reparación de DNA (reparación por escisión de nucleótido, NER; cap. 35). El principal daño infligido sobre el DNA por la radiación UV es la formación de dímeros de timina (pirimidina) (también conocidos como dímeros de ciclobutano pirimidina), donde se forman enlaces covalentes entre los átomos de carbono 5 y 5, y 6 y 6, de residuos timina intracadena adyacentes, lo que da por resultado los dímeros. También pueden ocurrir otros tipos de daño.

La NER tiene dos subvías: reparación de genoma global y reparación acoplada a transcripción. La primera examina todo el genoma y elimina con rapidez áreas dañadas. La segunda está enlazada a la transcripción, opera con lentitud, y elimina daño de la cadena de DNA transcrita.

Se han efectuado análisis detallados de NER involucrada en la eliminación de los dímeros de timina. La vía está muy conservada a través de especies, lo que indica su importancia. En general, la vía comprende cuatro pasos principales, todos los cuales involucran diversas enzimas: 1) **reconocimiento** de DNA dañado; 2) **escisión** de la región dañada; 3) **llenado** de la brecha mediante DNA polimerasa, y 4) **ligadura** del área llenada. En *E. coli* ocurre una división endonucleolítica, catalizada por una **endonucleasa** específica (también llamada una escinucleasa), en ambos lados del daño, lo que libera un nucleótido de 12 a 13 pares de bases. El paso de polimerización comprende **DNA polimerasa**, y el paso final es sellado mediante **DNA ligasa**.

La vía de la NER opera en seres humanos, y sus detalles aún se están elucidando. En general parece ser similar a la vía en *E. coli*. La diferencia más notable es que en seres humanos se escinde un nucleótido de tamaño mucho mayor (unas 30 bases). En la figura 35-24 se muestra un esquema simplificado de los pasos iniciales en la vía en seres humanos. Los productos de al menos siete genes (éstos codifican para XPA a XPG) han quedado implicados en la NER en seres humanos, y todos se han clonado. Las mutaciones en cualquiera de estos genes causan XP. En el niño cuya situación se comenta aquí, no se determinó el gen específico comprendido.

Dado que los genes de los cuales depende se han clonado, ahora es posible el **diagnóstico prenatal** de XP usando sondas apropiadas. La vía de la NER también participa en procesos que no son reparación de DNA, como recombinación, replicación y transcripción. La participación de los siete genes mencionados en la reparación del DNA originalmente se mostró como sigue: se observó que cuando células cultivadas provenientes de individuos con XP se cocultivaron con células provenientes de otros individuos en condiciones en las cuales ocurrió **fusión celular**, el defecto de la reparación del DNA a veces podía corregirse. Esto indicó que un juego de células estaba proporcionando un producto de gen normal al otro, lo que corregía el defecto. De esta manera, se han reconocido al menos **siete grupos de complementación**, que corresponden a los siete genes y sus productos antes mencionados.

Si el daño por UV no se repara, sobrevendrán **mutaciones en el DNA**, pueden ocurrir anormalidades cromosómicas, y puede surgir **cáncer**. Los pacientes con XP a menudo sufren diversos cánceres cutáneos desde una edad temprana.

Hay **otras vías** de reparación de DNA cooperativas en seres humanos (cap. 35). Todas son importantes para preservar la integridad del DNA, y las anormalidades de algunas de ellas se han relacionado con cáncer (p. ej., reparación de error de emparejamiento).

Se dijo a los padres del niño en el presente caso que el menor tendría que ser **vigilado de manera estrecha** de por vida por si aparecieran nuevos cánceres de la piel. Además, se les recomendó que

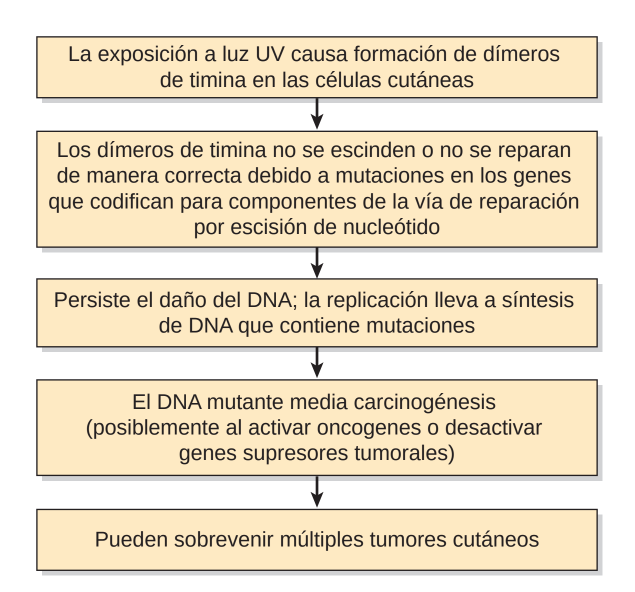


FIGURA 54-27 Resumen de los mecanismos comprendidos en la causa del xeroderma pigmentoso (OMIM 278730 y otras entradas). También compárese con la figura 35-24, que muestra el mecanismo de reparación por escisión de nucleótido.

CUADRO 54-8 Algunos desafíos importantes que encaran la medicina y las ciencias de la salud afines[1]

Tema	Desafío
Envejecimiento	Entender sus bases moleculares y quizá modificar algunos de sus efectos
Diversos tipos de artritis y osteoporosis	Entender sus bases moleculares (p. ej., estudio adicional de la función de la membrana extracelular en su causa) y mejorar las terapias actuales
Cánceres	Entender sus bases moleculares (p. ej., estudios adicionales sobre oncogenes, genes supresores tumorales y mecanismo de las metástasis), crear mejores biomarcadores para diagnóstico más temprano, y mejorar las terapias actuales
Enfermedades cardiovasculares (p. ej., infartos de miocardio y apoplejías)	Entender su base molecular (p. ej., conocimiento aumentado de la aterosclerosis y la trombosis), y mejorar las terapias actuales
Enfermedades neurodegenerativas crónicas (p. ej., enfermedad de Alzheimer)	Entender sus bases moleculares (p. ej., información adicional acerca de los papeles de diversas proteínas en su causa) y mejorar las terapias actuales
Diabetes mellitus	Obtener más información acerca de sus causas y efectos (p. ej., obtener un cuadro completo de todos los aspectos de la acción de la insulina y de mecanismos de daño de tejido, como glucación) y mejorar la terapia
Medicina ambiental	Requiere un esfuerzo concertado entre los científicos y trabajadores de la salud para prevenir más degradación del ambiente y prevenir efectos en potencia serios sobre la salud
Enfermedades genéticas	Establecer sus bases moleculares y crear terapia génica y otros tratamientos (p. ej., el uso de moléculas pequeñas para ayudar a proteínas afectadas a plegarse de manera apropiada)
Infecciones, incluso SIDA y enfermedades tropicales	Entender sus bases moleculares, prevenir su diseminación (p. ej., mediante conocimiento aumentado de las características bioquímicas de los microorganismos, y de los mecanismos de su fijación a células), y mejorar las terapias actuales
Nutrición	Mejorar el estándar mundial, y combatir problemas como malnutrición proteínico-energética y obesidad
Pobreza	Estímulo de un esfuerzo mundial para combatir la pobreza, que es una causa fundamental de muchos trastornos físicos y mentales
Enfermedades psiquiátricas	Entender sus bases moleculares (p. ej., determinar cuáles genes están involucrados en enfermedades como esquizofrenia y trastornos bipolares), y mejorar las terapias actuales
Bienestar	Educar a las poblaciones respecto a su mantenimiento (salud celular) e instituir medidas (p. ej., nutrición, ejercicio, vacunas, salud mental, evitación de toxinas) para ayudar a prevenir enfermedades

[1]Métodos bioquímicos y diversos métodos relacionados (genéticos, de biología celular, inmunológicos, patológicos, farmacológicos, etc.) serán cruciales para abordar muchos de estos desafíos, como lo serán los métodos de salud pública.

el niño **evitara la exposición a la luz solar** y que usara un **ungüento protector solar** apropiado. Si bien la XP es una enfermedad rara, la existencia de diversos mecanismos para reparar DNA después de exposición a diferentes tipos de radiación y a daño químico tiene **gran importancia protectora**. Sin su existencia, la vida sobre este planeta estaría preñada de aún más peligro de lo que está en la actualidad. Por ejemplo, se ha estimado que los pacientes con XP tienen 1 000 veces más probabilidad de presentar cáncer cutáneo que los individuos normales.

En la figura 54-27 se resumen los mecanismos involucrados en la causa de la XP.

EPÍLOGO

Se ha hecho notorio progreso en bioquímica y en campos relacionados, como genética y biología celular. Muchos de los descubrimientos en estas disciplinas han tenido grandes repercusiones sobre la medicina y ciencias de la vida relacionadas. El estudio de las bases moleculares de muchas enfermedades ha revelado información crucial acerca de su naturaleza. Con base en esos descubrimientos constantemente se están creando nuevos fármacos y otros tratamientos. Sin embargo, es obvio que la ciencia médica aún encara muchos desafíos importantes. En el cuadro 54-8 se resumen algunos de ellos. Los autores de este libro y otros bioquímicos creen que la aplicación de métodos bioquímicos, genéticos y afines a estos problemas y a otros no listados pagará ricos dividendos a partir de los cuales se beneficiarán personas de todo el mundo. Se espera que algunos de los lectores de este libro contribuyan a esos esfuerzos.

REFERENCIAS

Aiuti A et al: Gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. N Engl J Med 2009;360:447.

Axford JS, O'Callaghan C (editors). *Medicine*. 2nd ed. Blackwell Science, 2004. (Contains fundamental coverage of many of the conditions described here.)

Beers MH, Porter RS, Jones TV et al (editors): *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy.* 18th ed. Merck Research Laboratories, 2006. (This book is available free online at http://merck.com/mmpe/index.html and contains coverage of many of the conditions discused here.)

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (editors): *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* 4th ed. Elsevier Saunders,

2006. (Chapters 23 [Tumor Markers] and 49 [Mineral and Bone Metabolism] are of particular interest to the contents of this Chapter.)

Doherty GM, Way LW (editors): *Current Surgical Diagnosis & Treatment.* 12th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2006. (Chapter 30 contains a discussion of colorectal cancer.)

Eckel RH: Nonsurgical management of obesity in adults. N Engl J Med 2008;358:1941.

Fauci AS et al (editors): *Harrison's Principles of Internal Medicine.* 17th ed. McGraw-Hill, 2008. (Contains comprehensive descriptions of many of the conditions described here.)

Kohn DB, Candotti F: Gene therapy fulfilling its promise. N Engl J Med 2009;360:518. (Discusses aspects of the successful treatment of ADA deficiency.)

Rakel RE, Bope ET (editors): *Conn's Current Therapy.* Saunders Elsevier, 2007. (Various Chapters contain discussions of many of the conditions described here.)

Riordan JR: CFTR function and prospects for therapy. Annu Rev Biochem 2008;77:70.

Scientific American. Volume 18, no. 3, 2008. (A special edition on various aspects of cancer.)

Scriver CR et al (editors): *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* 8th ed. McGraw-Hill, 2001. (The online version of this text contains comprehensive up-dated descriptions of many of the conditions discussed in this Chapter.)

Shils ME, Shile M, Ross AC et al (editors): *Modern Nutrition in Health and Disease.* 10th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2006. (Contains comprehensive coverage of nutritional topics, including PEM [Chapter 57] and obesity [Chapters 63 & 64].)

Tannock IF, Hill RP, Bristow RG, Harrington L (editors): *The Basic Science of Oncology.* 4th ed. McGraw-Hill. 2005. (Various Chapters contain discussions of DNA repair and properties of cancer cells.)

Apéndice I

RESULTADOS DE LABORATORIO SELECCIONADOS

Los resultados se muestran tanto en unidades SI (*Systeme International d'Unites*) como en unidades "convencionales". Los resultados son importantes para la comprensión de los casos descritos en el capítulo 54. Los resultados de laboratorio pueden variar según el laboratorio; el lector debe pedir a su laboratorio local sus valores de referencia. (Los resultados listados aquí son de *Harrison. Principios de Medicina Interna*, Fauci AS *et al*. [editores], Apéndice: Valores de laboratorio de importancia clínica, por Kratz A *et al*., 17a. edición, McGraw-Hill, 2008, con autorización.)

Analito o medición en sangre	Unidades SI	Unidades convencionales
Ácido úrico		
Mujer	0.15 a 0.33 mmol/L	2.5 a 5.6 mg/dl
Varón	0.18 a 0.41 mmol/L	3.1 a 7.0 mg/dl
Alanina aminotransferasa (ALT)	0.12 a 0.70 µkat/L	7 a 41 U/L
Albúmina		
Mujer	41 a 53 g/L	4.1 a 5.3 g/dl
Varón	40 a 50 g/L	4.0 a 5.0 g/dl
Antígeno carcinoembrionario (CEA)	0.0 a 3 mg/L	0.0 a 3.0 ng/ml
Bicarbonato	22 a 30 mmol/L	22 a 30 meq/L
Calcio	2.2 a 2.6 mmol/L	8.7 a 10.2 mg/dl
Cloruro	102 a 109 mmol/L	102 a 109 meq/L
Colesterol, de HDL	1.03 a 1.55 mmol/L	40 a 60 mg/dl
Colesterol, de LDL (considerado óptimo)	< 2.59 mmol/L	< 100 mg/dl
Colesterol total (estas cifras se consideran deseables)	< 5.17 mmol/L	< 200 mg/dl
Creatinina		
Mujer	44 a 80 µmol/L	0.5 a 0.9 ng/ml
Varón	53 a 106 µmol/L	0.6 a 1.2 ng/ml
Desequilibrio aniónico	7 a 16 mmol/L	7 a 16 mmol/L
Eritrocitos		
Mujer	4.00 a 5.20 × 10^{12}/L	4.00 a 5.20 × 10^{6}/mm^{3}
Varón	4.30 a 5.60 × 10^{12}/L	4.30 a 5.60 × 10^{6}/mm^{3}
Ferritina		
Mujer	10 a 150 µg/L	10 a 150 ng/ml
Varón	29 a 248 µg/L	29 a 248 ng/ml

Analito o medición en sangre	Unidades SI	Unidades convencionales
Fósforo inorgánico	0.81 a 1.4 mmol/L	2.5 a 4.3 mg/dl
Hematócrito		
Mujer	0.354 a 0.444	35.4 a 44.4
Varón	0.388 a 0.464	38.8 a 46.4
Hemoglobina		
Mujer	120 a 158 g/L	12.0 a 15.8 g/dl
Varón	133 a 162 g/L	13.3 a 16.2 g/dl
Hierro	7 a 25 µmol/L	41 a 141 µg/dl
Hierro, capacidad de unión de	45 a 73 µmol/L	251 a 406 µg/dl
Hierro, saturación de	0.16 a 0.35	16 a 35%
Lactato (en sangre arterial)	0.5 a 1.6 mmol/L	4.5 a 14.4 mg/dl
Magnesio	0.62 a 0.95 mmol/L	1.5 a 2.3 mg/dl
Nitrógeno ureico	2.5 a 7.1 mmol/L	7 a 20 mg/dl
Osmolalidad	275 a 295 mosmol/kg de agua de suero	275 a 295 mosmol/kg de agua de suero
pH (arterial)	7.35 a 7.45	7.3 a 7.45
Potasio	3.5 a 5.0 mmol/L	3.5 a 5.0 meq/L
Proteína C reactiva	0.20 a 3.0 mg/L	0.20 a 3.0 mg/L
Proteína, total	67 a 86 g/L	6.7 a 8.6 g/dl
Sodio	136 a 146 mmol/L	136 a 146 meq/L
Tiroxina		
Libre	10.3 a 21.9 pmol/L	0.8 a 1.7 ng/dl
Total	70 a 151 nmol/L	5.4 a 11.7 µg/dl
Transferrina	2.0 a 4.0 g/L	200 a 400 mg/dl
Triglicéridos (en ayunas)	0.34 a 2.26 mmol/L	30 a 200 mg/dl
Troponina T	0 a 0.1 µg/L	0 a 0.1 ng/ml
TSH	0.34 a 4.25 mIU/L	0.34 a 4.25 µIU/ml

Apéndice II

SITIOS WEB DE TODO EL MUNDO SELECCIONADOS

La siguiente es una lista de sitios web que los lectores tal vez consideren útiles. Uno o más de los autores han visitado los sitios en varias ocasiones. Casi todos están ubicados en Estados Unidos, pero muchos proporcionan extensos enlaces a sitios y bases de datos internacionales (p. ej., para proteínas y secuencias de ácido nucleico) y revistas en línea. El autor de esta obra (Robert K. Murray) agradecerá que los lectores que encuentren otros sitios útiles le notifiquen sus URL por correo electrónico (rmurray6745@rogers.com) a fin de considerar su inclusión en futuras ediciones de este libro.

Los lectores deben tener en cuenta que las URL pueden cambiar o dejar de existir.

ACCESO A LITERATURA BIOMÉDICA

High Wire Press: http://highwire.stanford.edu/

(Amplias listas de diversas clases de revistas —biología, medicina, etc.—; también ofrece la más amplia lista de revistas con acceso gratuito en línea.)

National Library of Medicine: http://www.nlm.nih.gov/

(Acceso libre a Medline por medio de PubMed.)

SITIOS DE RECURSOS GENERALES

The Biology Project (de la University of Arizona): http://www. biology.arizona.edu/default.html

(Contiene una excelente cobertura bioquímica de enzimas, membranas, etc.)

Harvard University Department of Molecular & Cellular Biology Links: http://mcb.harvard.edu/BioLinks.html

(Contiene muchos enlaces útiles.)

SITIOS SOBRE TEMAS ESPECÍFICOS

American Heart Association: http://www.americanheart.org/

(Valiosa información sobre nutrición, sobre el papel de diversas biomoléculas —por ejemplo, colesterol, lipoproteínas— en enfermedades del corazón, y sobre las principales enfermedades cardiovasculares.)

Cancer Genome Anatomy Project (CGAP): http://www.cgap.nci.nih.gov/

(Un programa interdisciplinario para generar la información y herramientas técnicas para descifrar la anatomía molecular de la célula cancerosa.)

Carbohydrate Chemistry and Glycobiology: A Web Tour: http://sciencemag.org/feature/data/carbohydrates.dtl

(Contiene enlaces a química orgánica, química de carbohidratos y glucobiología.)

European Bioinformatics Institute: http://www.ebi.ac.uk/

(Mantiene las bases de datos EMBL Nucleotide y SWISS-PROT, así como otras bases de datos.)

GeneCards: http://www.genecards.org/

(Una base de datos de genes humanos, sus productos, y sus implicaciones en la enfermedad, del Weizmann Institute of Science.)

GeneTests: http://www.geneclinics.org/

(Una fuente de información genética médica con artículos integrales sobre las enfermedades genéticas.)

Genes and Disease: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/disease/

(Cobertura de las bases genéticas de muchas enfermedades diferentes.)

Howard Hughes Medical Institute: http://www.hhmi.org/

(Un excelente sitio para el seguimiento de la investigación biomédica actual. Contiene un amplio Research News Archive.)

Human Gene Mutation Database: http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php

(Un amplio cuadro de mutaciones en genes de ser humano, del Institute of Medical Genetics en Cardiff, Gales.)

Human Genome Project Information: http://www.doegenomes.org/

(Del U.S. Department of Energy; también contiene información general sobre genómica y sobre genomas microbianos.)

J. Craig Venter Institute: http://www.tigr.org/index.shtml

(Contiene secuencias de genomas de bacterias y otra información.)

Karolinska Institute: Diseases and Disorders: http://www.mic.ki.se/Diseases/C18.html

(Contiene amplios enlaces relacionados con enfermedades nutricionales y metabólicas.)

Lipids Online: http://lipidsonline.org/

(Un recurso del Baylor College of Medicine para los profesionales del cuidado de la salud interesados en la aterosclerosis, las dislipidemias y el manejo de lípidos.)

MITOMAP: http://www.mitomap.org/
(Una base de datos del genoma mitocondrial de seres humanos.)
National Center for Biotechnology Information: http://ncbi.nlm.nih.gov/
(Información sobre biología molecular y cómo los procesos moleculares afectan la salud y la enfermedad de los seres humanos.)
National Human Genome Research Institute: http://www.genome.gov/
(Amplia información sobre el Human Genome Project e investigación subsiguiente.)
National Institutes of Health: http://www.nih.gov/
(Incluye enlaces a los distintos Institutos y Centros que conforman los NIH; abarcan una amplia gama de la investigación biomédica.)
Office of Rare Diseases: http://rarediseases.info.nih.gov
(Acceso a información sobre más de 7 000 enfermedades raras, incluida la investigación en curso.)
OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man): http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim
(Un recurso fantásticamente completo sobre las enfermedades genéticas de seres humanos, iniciado por el Dr. Victor A. McKusick, considerado por muchos como el padre de la genética humana moderna.)
Protein Data Bank: http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do
(Un depósito de todo el mundo para el procesamiento y la distribución de datos sobre estructura macromolecular biológica tridimensional.)
Society for Endocrinology: http://www.endocrinology.org/
(El sitio tiene como objetivo promover la educación y la investigación en endocrinología para el beneficio público.)
Society for Neuroscience: http://www.sfn.org
(Contiene información útil sobre diversos temas en neurociencia.)
The Broad Institute: http://www.broad.mit.edu/
(The Broad Institute es una colaboración de investigación del MIT, Harvard, y sus hospitales afiliados, y el Whitehead Institute, y se creó para llevar el poder de la genómica a la medicina.)
The Endocrine Society: http://www.endo-society.org/
(La misión de The Endocrine Society es promover la excelencia en endocrinología, y su función esencial como una fuerza integradora en la investigación científica y el ejercicio de la medicina.)
The Protein Kinase Resource: http://www.kinasenet.org/
(Información sobre la familia de enzimas proteína cinasa.)
The UCSD-Nature Signaling Gateway: http://www.signallinggateway.org/
(Un recurso para cualquier persona interesada en la transducción de señales.)
The Wellcome Trust Sanger Institute: http://www.sanger.ac.uk/
(Un centro de investigación sobre el genoma, cuyo propósito es aumentar el conocimiento de los genomas, en particular por medio de la secuenciación y análisis a gran escala.)

REVISTAS Y RESEÑAS DE BIOQUÍMICA

La siguiente es una lista parcial de revistas de bioquímica y series de reseñas, y algunas revistas biomédicas que contienen artículos sobre bioquímica. Las revistas de bioquímica y biología ahora por lo general tienen sitios web, a menudo con enlaces útiles, y algunas revistas están por completo accesibles, sin costo alguno. El lector puede obtener las URL de las que siguen, utilizando un motor de búsqueda.

- *Annual Reviews of Biochemistry, Cell and Developmental Biology, Genetics, Genomics and Human Genetics*
- *Archives of Biochemistry and Biophysics (Arch Biochem Biophys)*
- *Biochemical and Biophysical Research Communications (Biochem Biophys Res Commun*)
- *Biochemical Journal (Biochem J)*
- *Biochemistry (Biochemistry)*
- *Biochemistry (Moscow) (Biochemistry [Mosc])*
- *Biochimica et Biophysica Acta (Biochim Biophys Acta)*
- *Biochimie (Biochimie)*
- *European Journal of Biochemistry (Eur J Biochem)*
- *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics (Indian J Biochem Biophys)*
- *Journal of Biochemistry (Tokyo) (J Biochem [Tokyo])*
- *Journal of Biological Chemistry (J Biol Chem)*
- *Journal of Clinical Investigation (J Clin Invest)*
- *Journal of Lipid Research (J Lipid Res)*
- *Nature (Nature)*
- *Nature Genetics (Nat Genet)*
- *Proceedings of the National Academy of Sciences USA (Proc Natl Acad Sci USA)*
- *Science (Science)*
- *Trends in Biochemical Sciences (Trends Biochem Sci)*

Índice alfabético

Nota: Los números de página seguidos por f indican figuras, en tanto que los números de página seguidos por c indican cuadros

B

C

D

E

F

G

H

I

J

K

L

M

N

O

P

Q

R

S

T

U

V

W

X

Y

Z